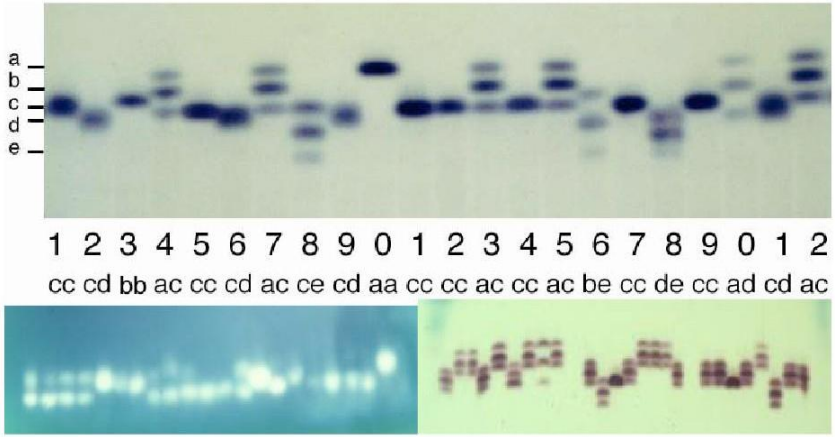
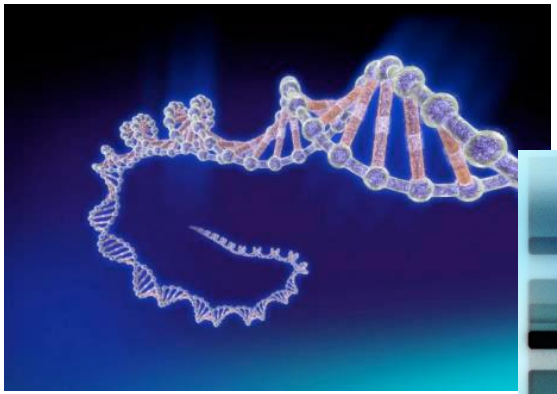
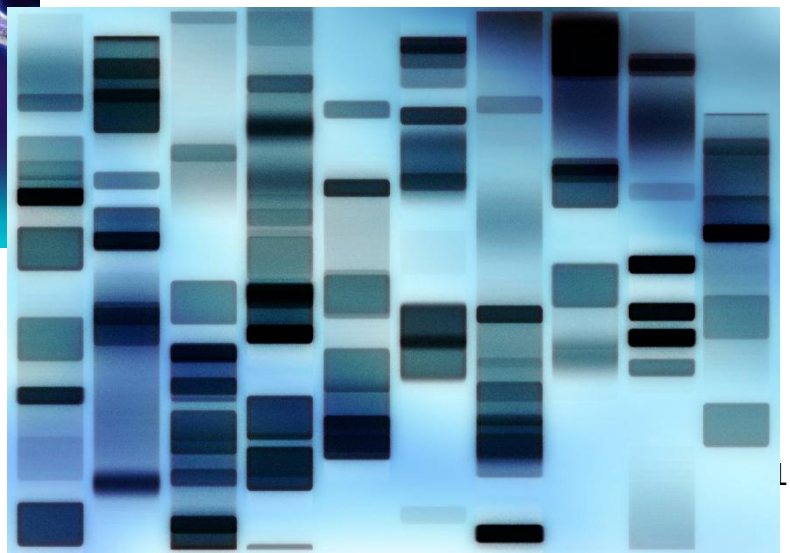
Definizione di Marcatore Biologico

- I Marcatori biologici possono essere qualsiasi cosa che distingue un individuo da un altro od una popolazione di individui da un'altra

- Esso può essere fenotipico
- Oppure biochimico
- Oppure molecolare (genetico)


a
b
c
d
e
1 2 3 4 5 6 7 8 9 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 0 1 2
cc cd bb ac cc cd ac ce cd aa cc cc ac cc ac be cc de cc ad cd ac





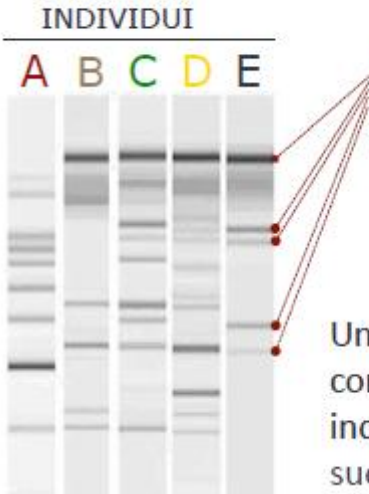
MARCATORI MOLECOLARI

Un MARCATORE MOLECOLARE è un frammento di DNA associato ad un tratto di cromosoma

sono degli strumenti molto efficaci nel determinare la presenza o l'assenza di un determinato gene in individui diversi
o le differenze esistenti in quei tratti di DNA a cui essi sono associati.

In agricoltura un marcatore molecolare ha lo stesso valore delle impronte digitale negli studi forensi.

Una impronta digitale consente di identificare un individuo dal suo dito



Un marcatore molecolare consente di identificare un individuo dall'analisi del suo DNA

I marcatori molecolari non sono associati necessariamente
ad una variazione misurabile del fenotipo (variazione neutra
di DNA)

TEORIA DELLA NEUTRALITA (1983): *una piccolissima*
frazione dei cambiamenti del DNA ha un significato in termini
adattativi, con effetto sulla fitness. La maggior parte delle
mutazioni é silente tale da lasciare il prodotto genico inalterato …
Riempiono spazi vuoti tra geni a fenotipo noto

Da dove derivano i marcatori molecolari?

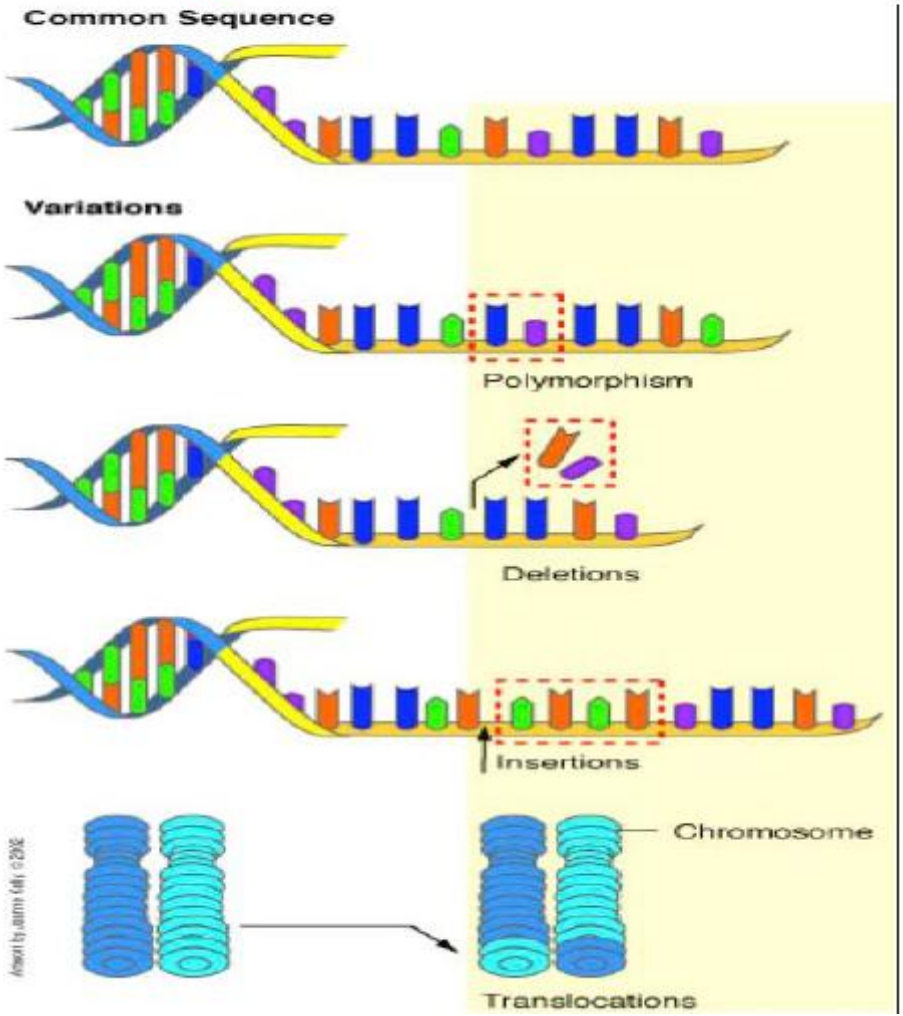
VARIAZIONI DEL GENOMA

Mutazioni e polimorfismi

I POLIMORFISMI sono frutto della naturale variazione nella sequenza del DNA
I CAMBIAMENTI nel DNA sono dovuti a:
- mutazioni di singole basi
- inversioni, traslocazioni, delezioni
- trasposoni

Tutto ciò comporta che 2 organismi non sono mai identici nella sequenza di basi del DNA

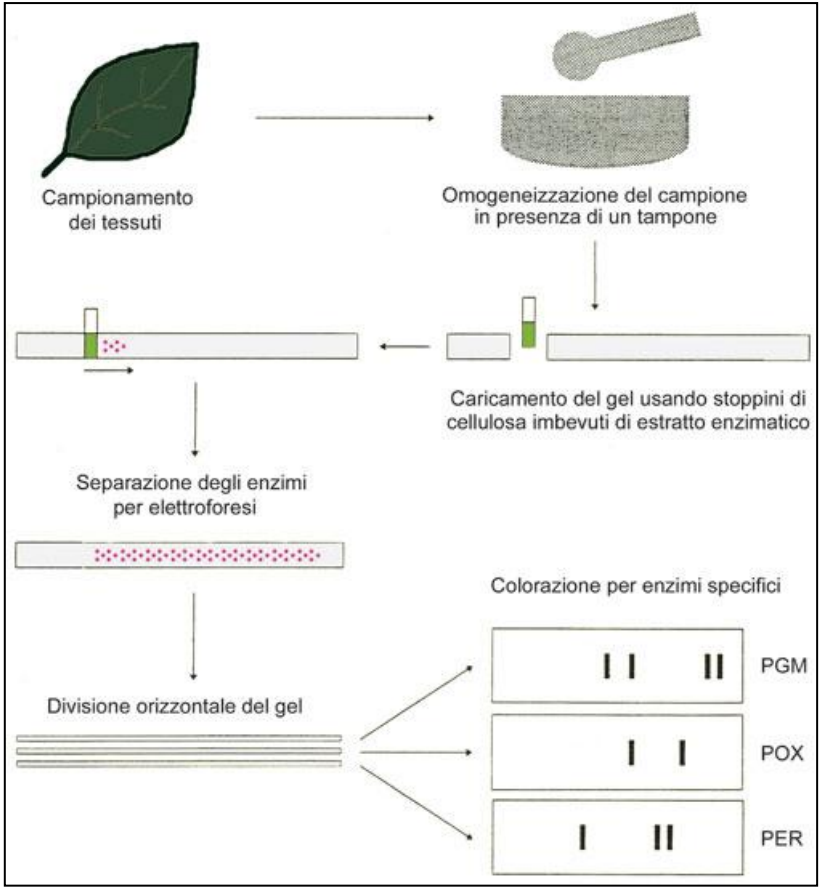
Variazioni del genoma

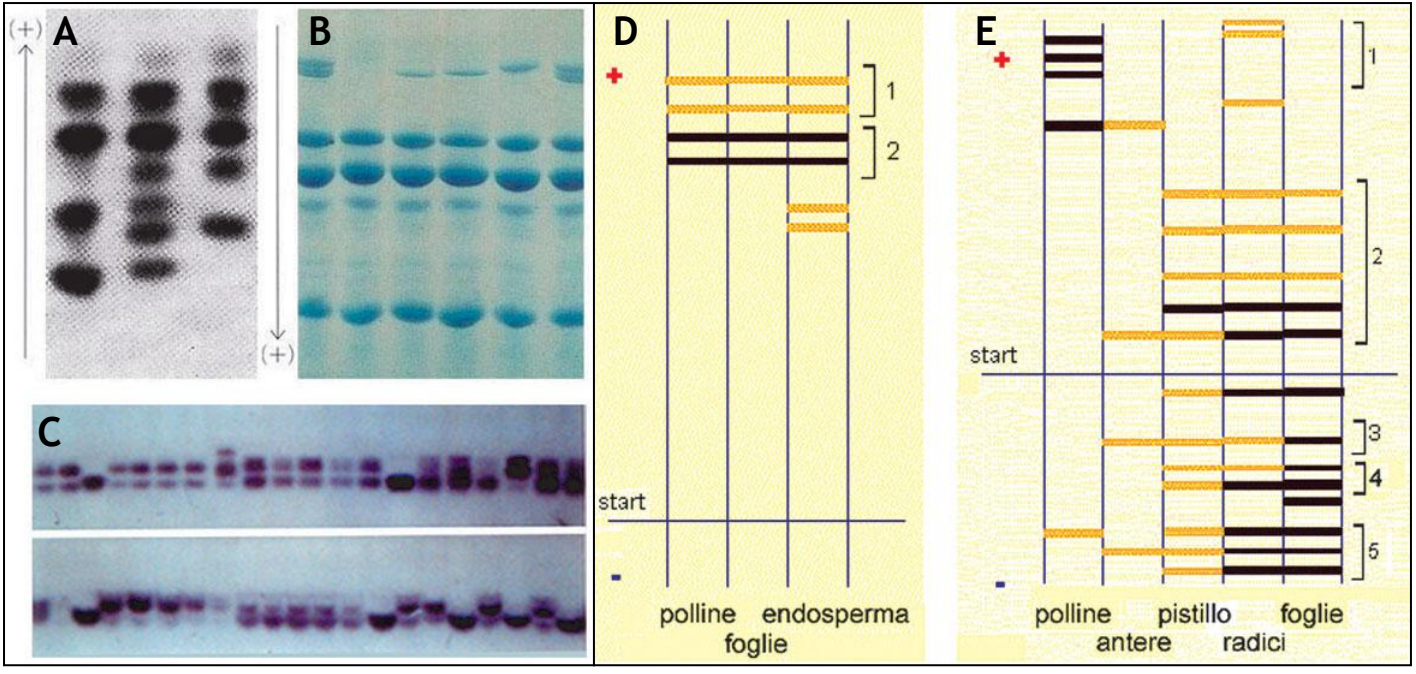


Un marcatore molecolare ideale deve essere:

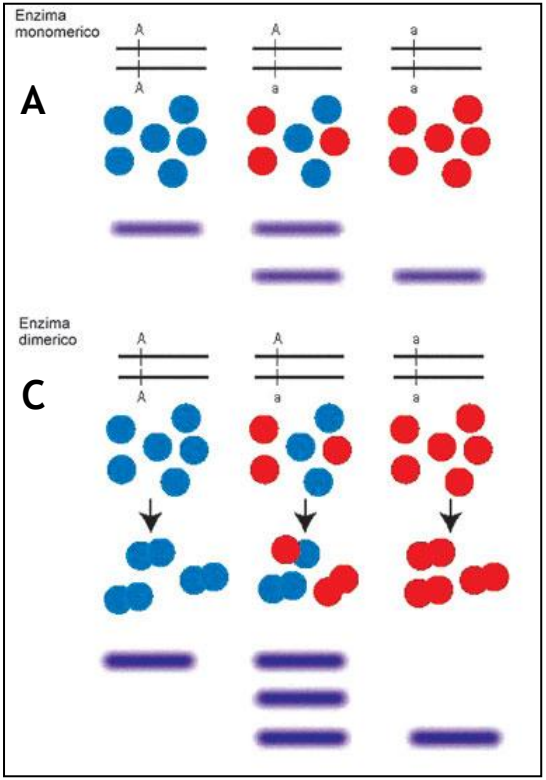
-Altamente polimorfico
- Codominante
- 1requente ed uniforme sull'intero genoma
- Comportamento neutrale alla selezione
- Facile
- Veloce
- Economico
- Altamente riproducibile
- I dati prodotti devono essere universalmente analizzabili
- Automatizzabile

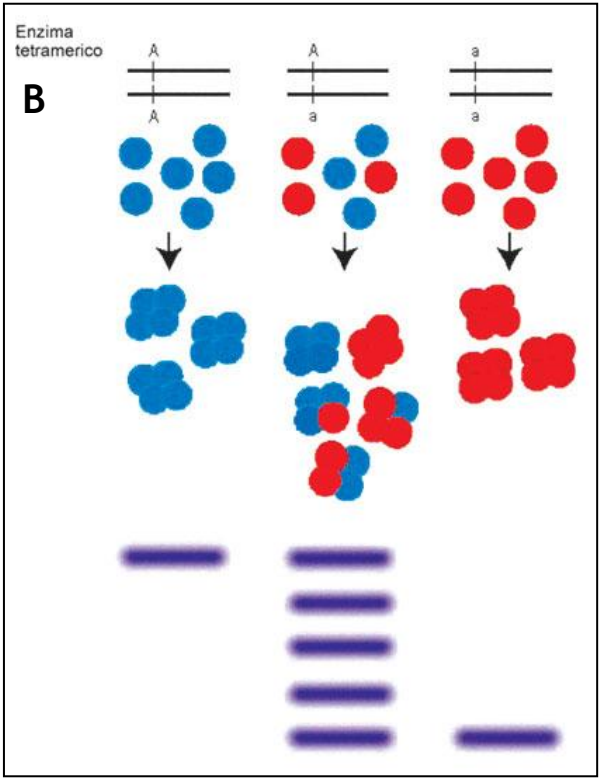
MARCATORI ENZIMATICI





Marcatori biochimici: (A) fosfo-gluco-mutasi (*PGM*); (B) lipoossigenasi (*LOX*) in soia; (C) esterasi (*EXT*) in poa pratense; (D,E) rappresentazioni schematiche di isoenzimi e alloenzimi del sistema leucinoammino-peptidasi (*LAP*) e perossidasi (*POX*) in mais che mettono in evidenza la tessuto-specificità di questi marcatori.





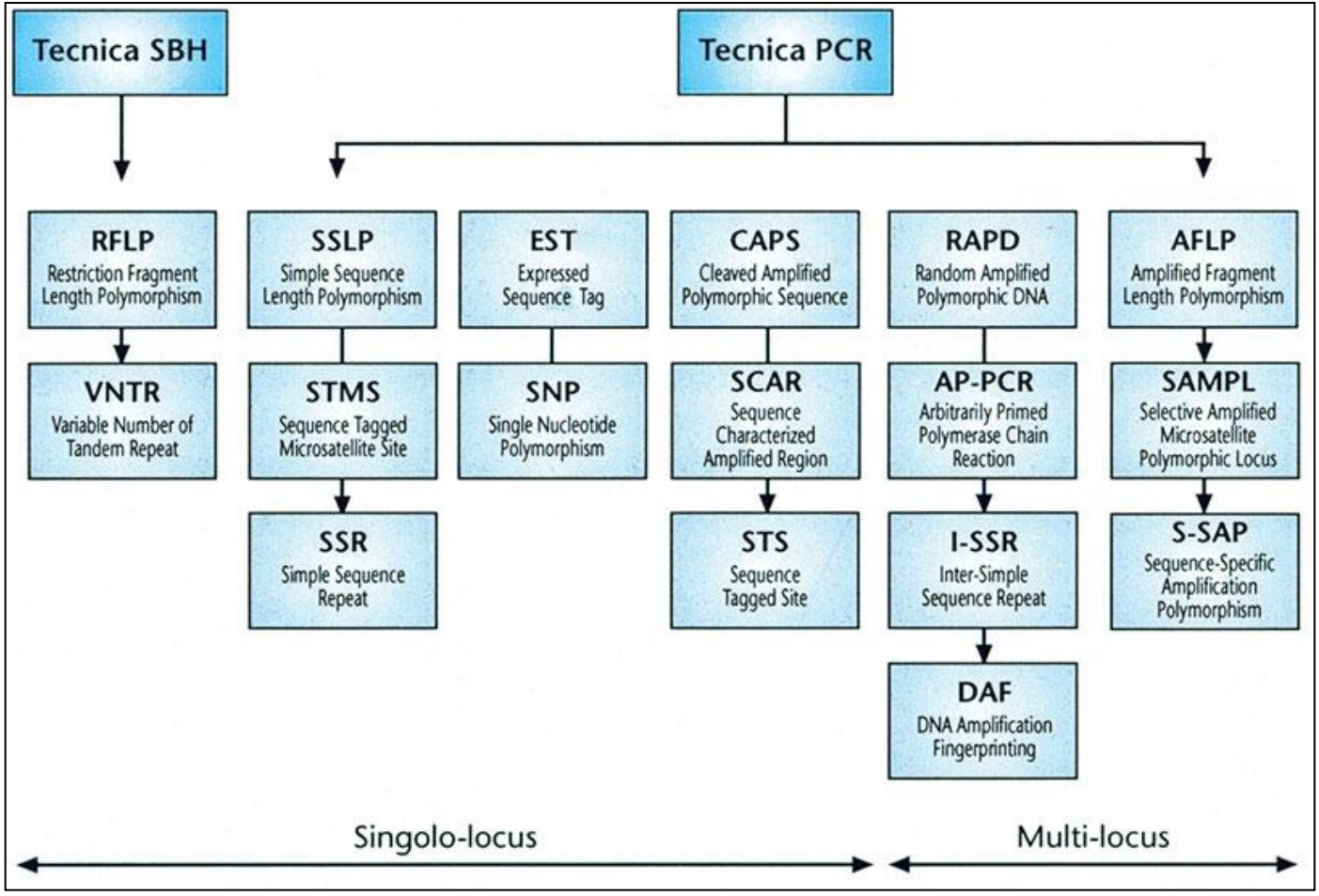
Rappresentazione schematica delle possibili combinazioni di catene polipeptidiche e di profili elettroforetici ottenibili con enzimi monomerici (A), dimerici (B) e tetramerici (C) in organismi diploidi.

Vantaggi:
- Semplicità
-Facile interpretazione

Svantaggi
-Poco abbondanti
- Proteine con identica mobilità possono essere confuse
- Possono essere influenzati dall’ambiente

Un marcatore molecolare può essere definito come quel locus genomico, rilevabile con tecniche di biologia molecolare che, in virtù della sua presenza, contraddistingue in modo caratteristico ed inequivocabile il tratto cromosomico con il quale si identifica e le regioni che lo circondano alle estremità 5’ e 3’.

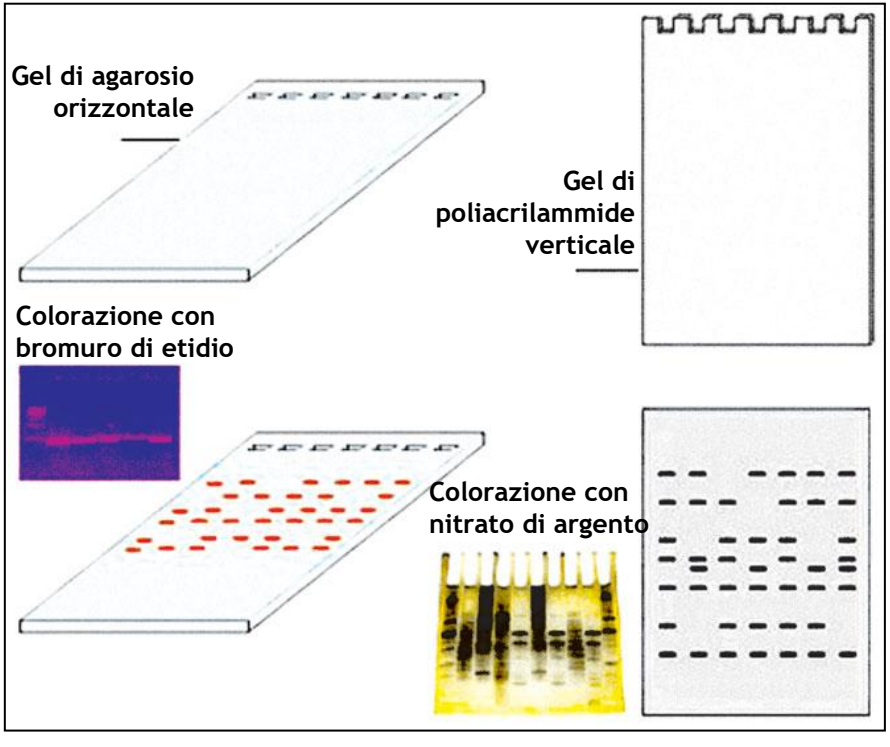
MARCATORI MOLECOLARI



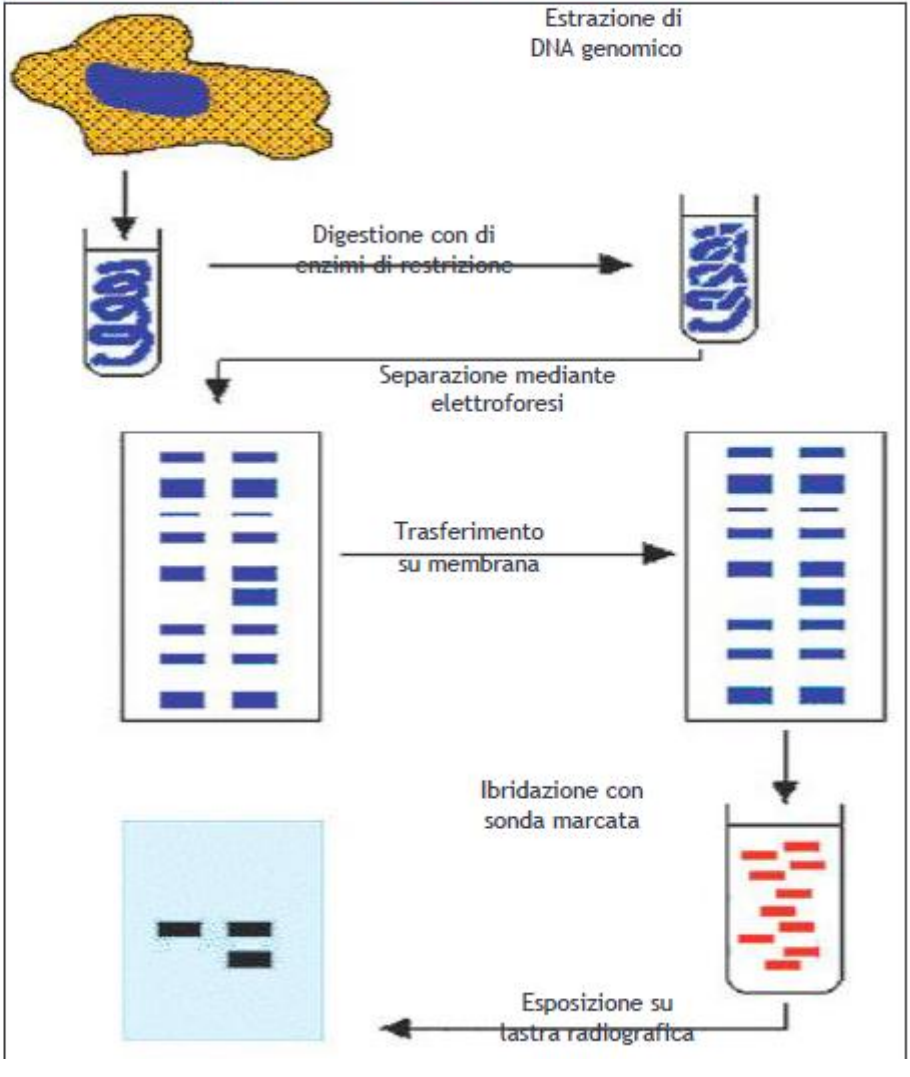
Tecniche di biologia molecolare più utlizzate:

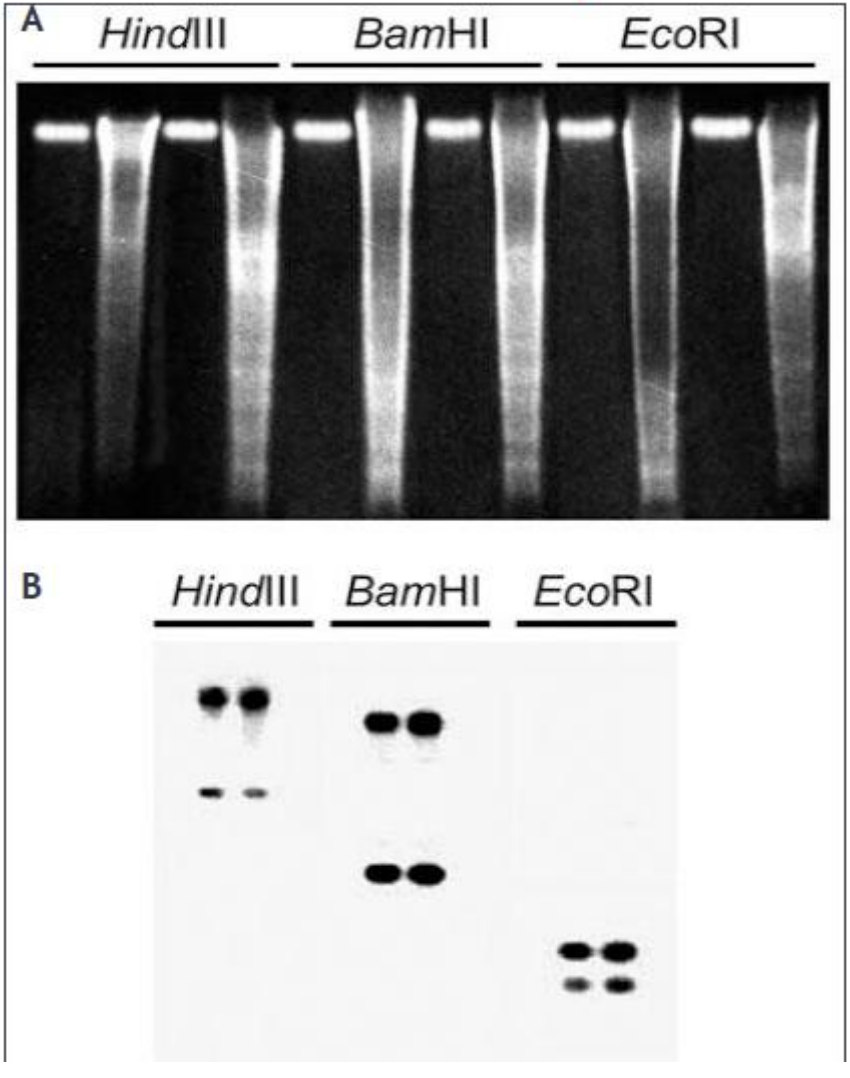
-Ibridazione tipo Southern

- PCR Polymerase Chain Reaction


Gel di agarosio orizzontale
Gel di poliacrilammide verticale
Colorazione con bromuro di etidio
Colorazione con nitrato di argento

Ibridazione tipo southern





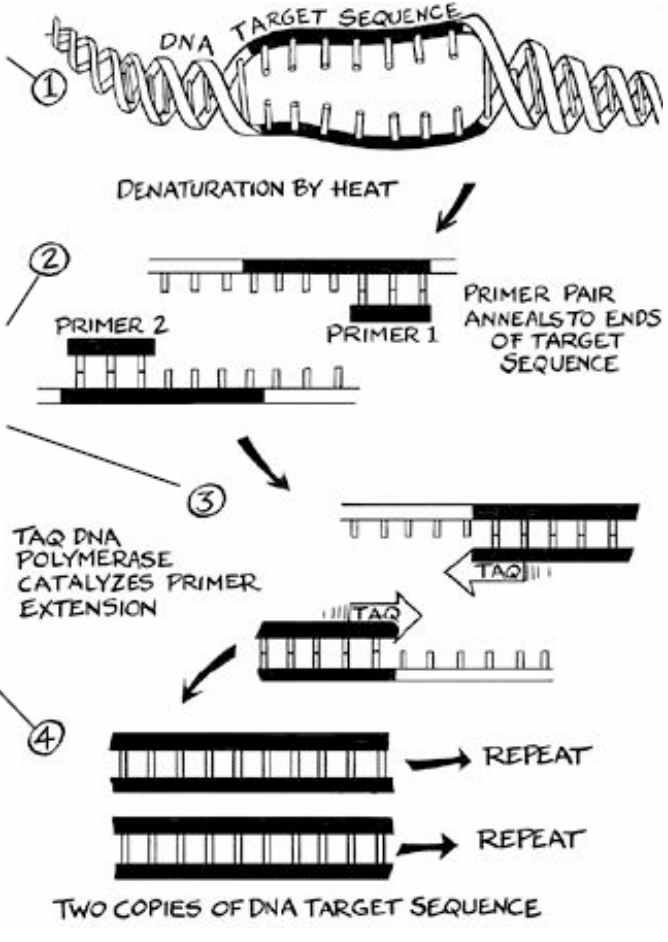
Risultati di una analisi elettroforetica di sei campioni di DNA genomico di *Medicago sativa* integri e digeriti con tre diversi enzimi di restrizione (*Hind*III, *Bam*HI e *Eco*RI) (A) e ibridati con una sonda specifica per una β-tubulina (B).

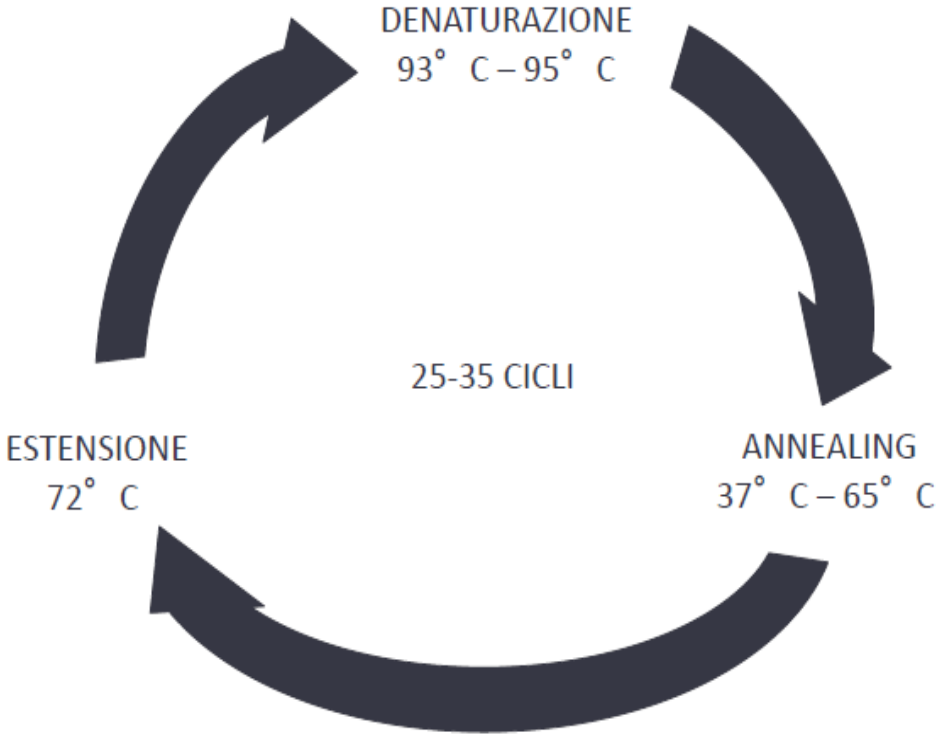
Tecnologia della PCR – Polymerase Chain Reaction

E' l'amplificazione esponenziale *in vitro* di una specifica regione di DNA a doppia elica, generandone una quantità sufficiente per essere analizzata (clonaggio, sequenziamento, costruzione di mappe di restrizione, ecc).

Richiede due **oligonucleotidi** (*primer*) –ciascuno complementare ad una delle due eliche di DNA da amplificare – ed una **DNA polimerasi**

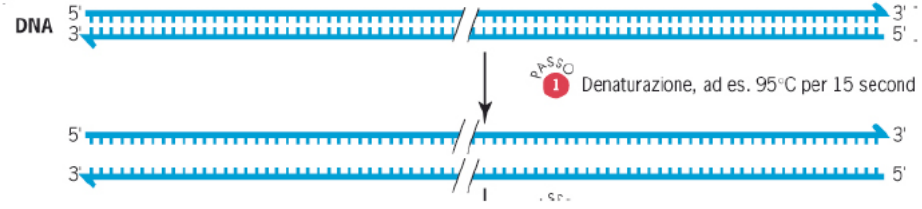
Cicli ripetuti di riscaldamento e raffreddamento amplificano la regione di DNA compresa tra i due primer, producendo grandi quantità di DNA ik




DENATURAZIONE
93° C – 95° C
ANNEALING
37° C – 65° C
ESTENSIONE
72° C
25-35 CICLI

1. DENATURAZIONE *30-60 s, 93-95 ° C*

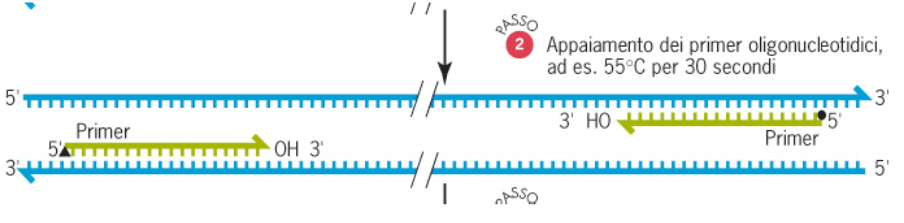
La prima fase della PCR, dunque prevede la denaturazione del DNA stampo che passa dalla classica conformazione a doppio filamento (*double stranded*), ognuno dei quali è tenuto insieme da legami a idrogeno tra le basi azotate complementari (A:T ; G:C) a una condizione a singola elica (*single stranded*).



La denaturazione del DNA si verifica solo quando la complessa miscela di reazione contenente il DNA è portata ad una temperatura superiore a quella di fusione (*melting temperature)*, solitamente compresa tra i 92° C e 96° C, in corrispondenza della quale i legami ad idrogeno si rompono determinando la separazione dei singoli filamenti del DNA

2. ANNEALING 30-60 s, 37-65° C

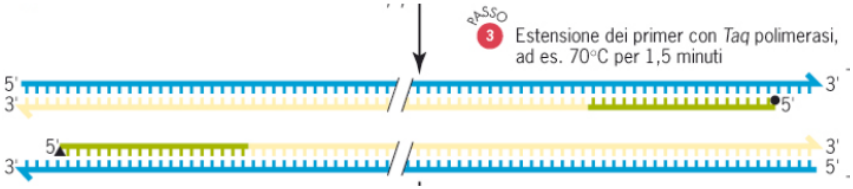
In seguito alla denaturazione del DNA, la temperatura della reazione è abbassata a valori compresi tra 40 e 60° C; tale temperatura è estremamente importante e deve essere stabilita di volta in volta e calibrata per ogni singola reazione di PCR. L'*annealing* consente l'ibridazione degli inneschi oligonucleotidici alle sequenze complementari fiancheggianti il DNA bersaglio. Gli oligonucleotidi appaiati fungono da inneschi per la sintesi di DNA, fornendo alla DNA polimerasi un gruppo 3'-ossidrile libero.



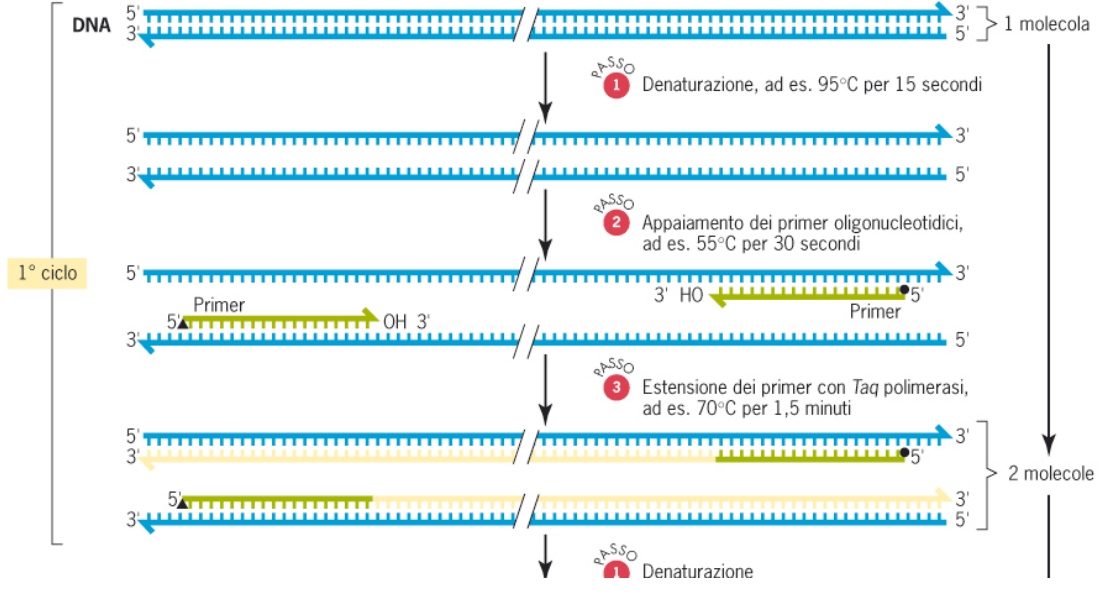
Se la reazione avviene in condizioni non ottimali si rischia di ottenere altri prodotti (detti aspecifici) oltre la sequenza desiderata, oppure di non produrre alcun amplificato.

3. ESTENSIONE/POLIMERIZZAZIONE *1 min, 72 ° C*

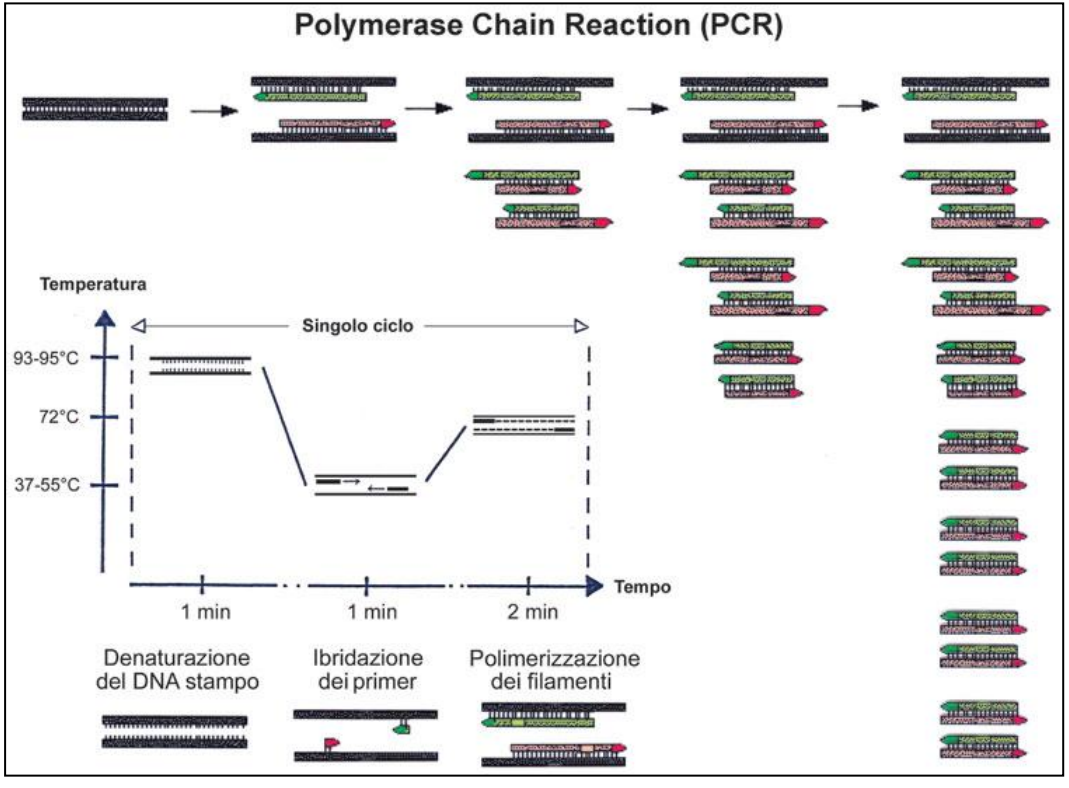
La terza e ultima fase di una reazione di PCR precede la sintesi di DNA o estensione (*elongation*) per opera di una polimerasi termostabile. La polimerasi aggiunge dNTP agli inneschi in direzione 5'->3', leggendo lo stampo in direzione 3'->5'; le basi aggiunte sono complementari al filamento stampo.



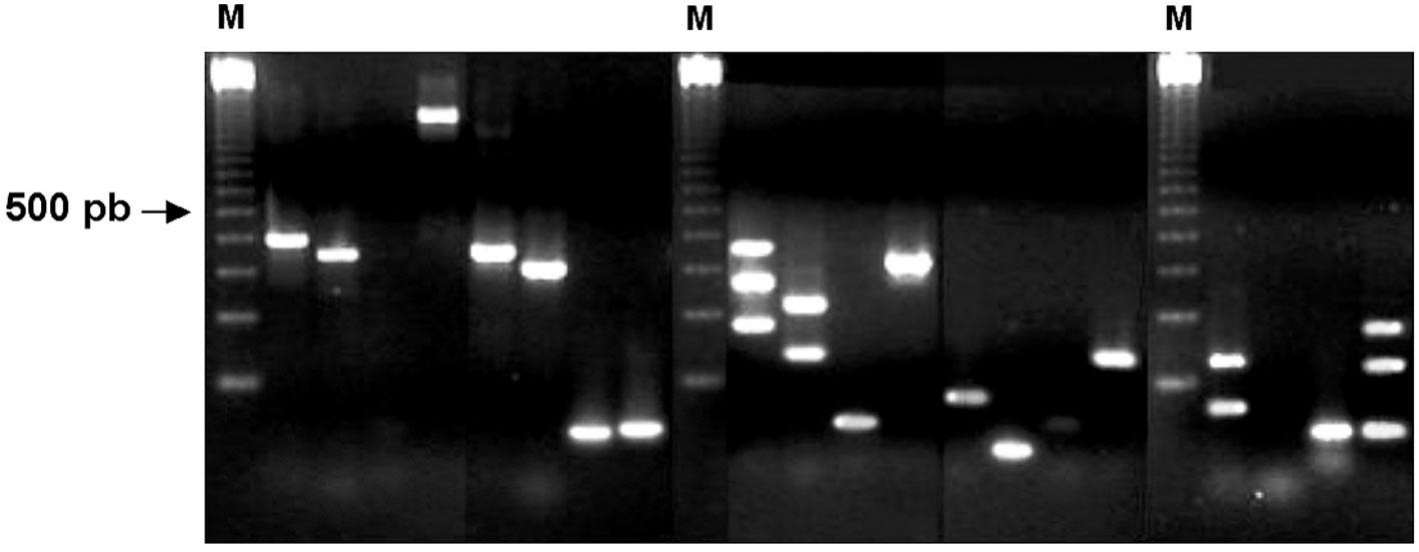
La temperatura di funzionamento della polimerasi è compresa tra i 68 e i 72° C. Considerando che l'estensione degli inneschi avviene ad una velocità di 100 basi/secondo, un minuto in genere è sufficiente per amplificare con una buona resa stampi lunghi circa 1000 paia di basi (1 kbp).



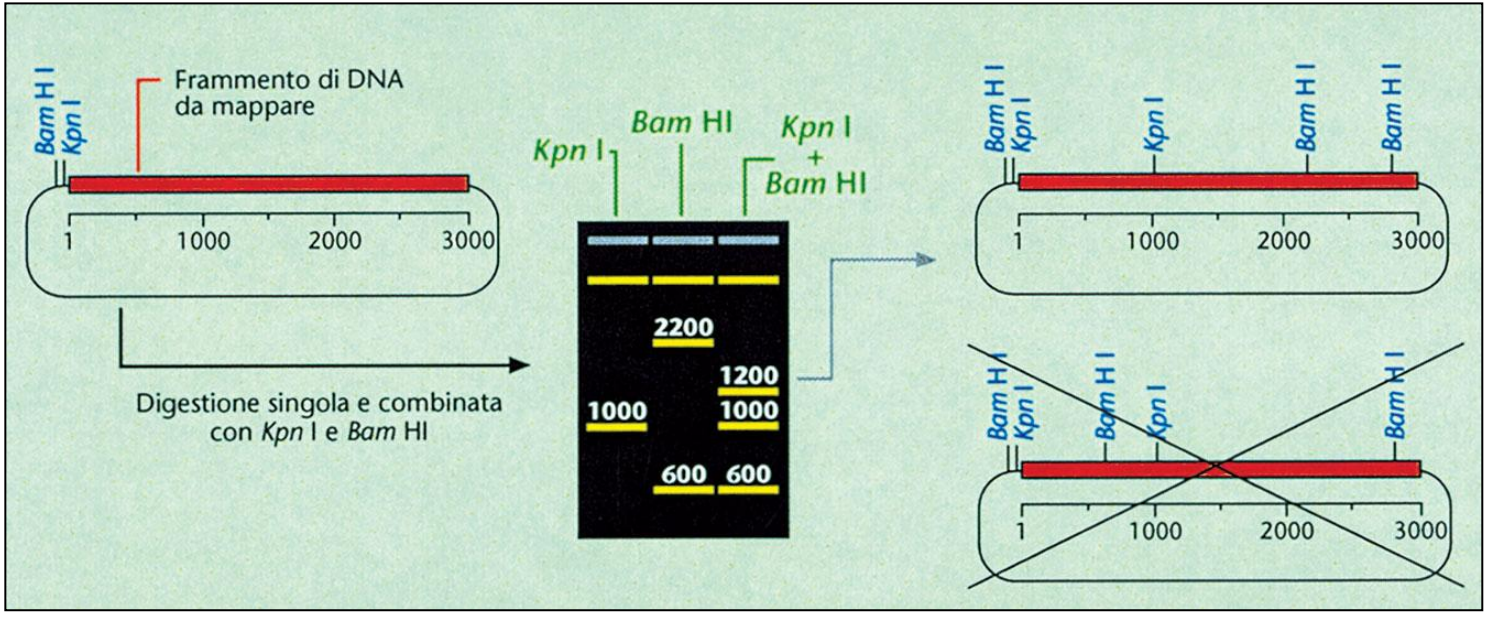
REAZIONE A CATENA DELLA POLIMERASI (PCR)



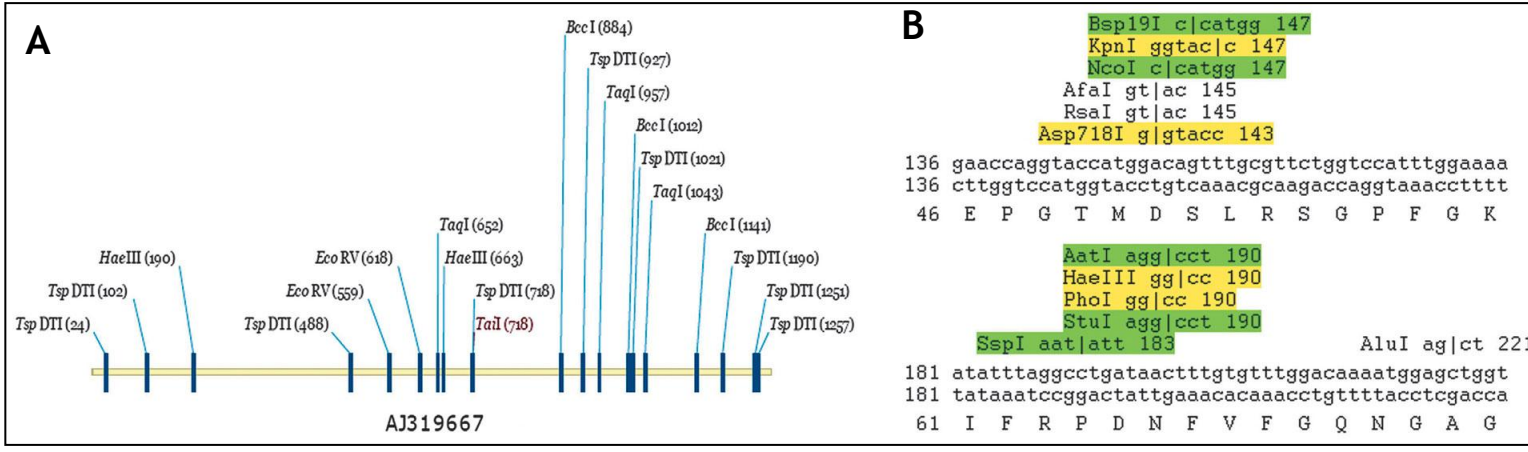
REAZIONE A CATENA DELLA POLIMERASI (PCR)



MAPPE DI RESTRIZIONE



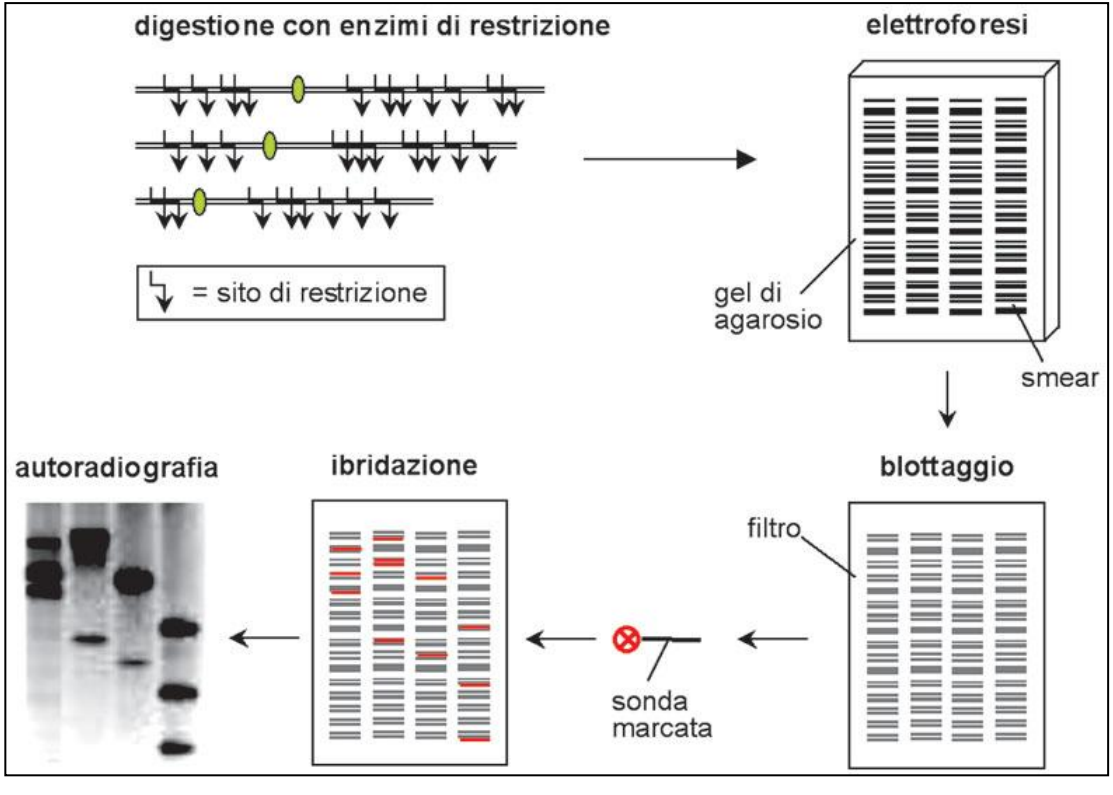
Utili per l'analisi di sequenze di DNA clonate, per determinare l'ordine e la posizione di specifici siti di restrizione. Si utilizzano due enzimi di restrizione sia singolarmente che in combinazione



Mappe dei siti di restrizione identificati nella regione codificante di un gene con informazioni relative agli enzimi di restrizione e alla dimensione dei frammenti di restrizione (A) oppure alla posizione ed alla composizione delle sequenze di restrizione (B)

MARCATORI MOLECOLARI BASATI SU TECNICHE DI RESTRIZIONE E IBRIDAZIONE

MARCATORI RFLP (restriction fragment length polymorphism) – polimorfismo della lunghezza dei frammenti di restrizione

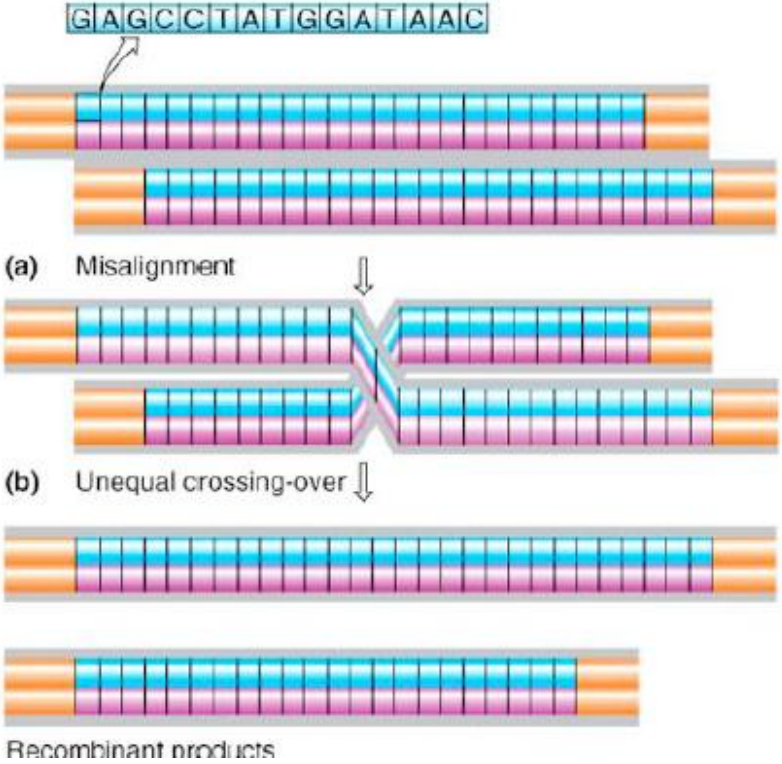


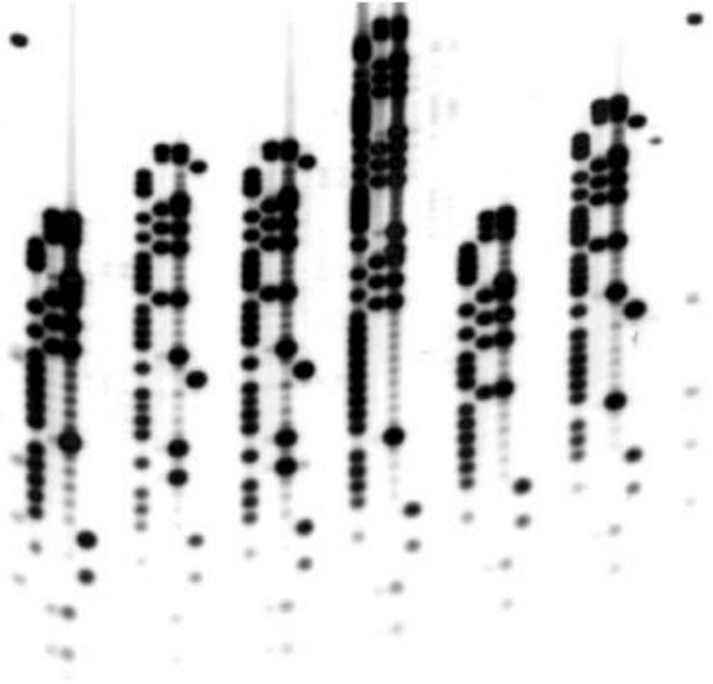
Le sonde possono essere omologhe o eterologhe, isolate da librerie genomiche o di cDNA

Minisatellites (VNTR) D Variable number of Tandem Repeats

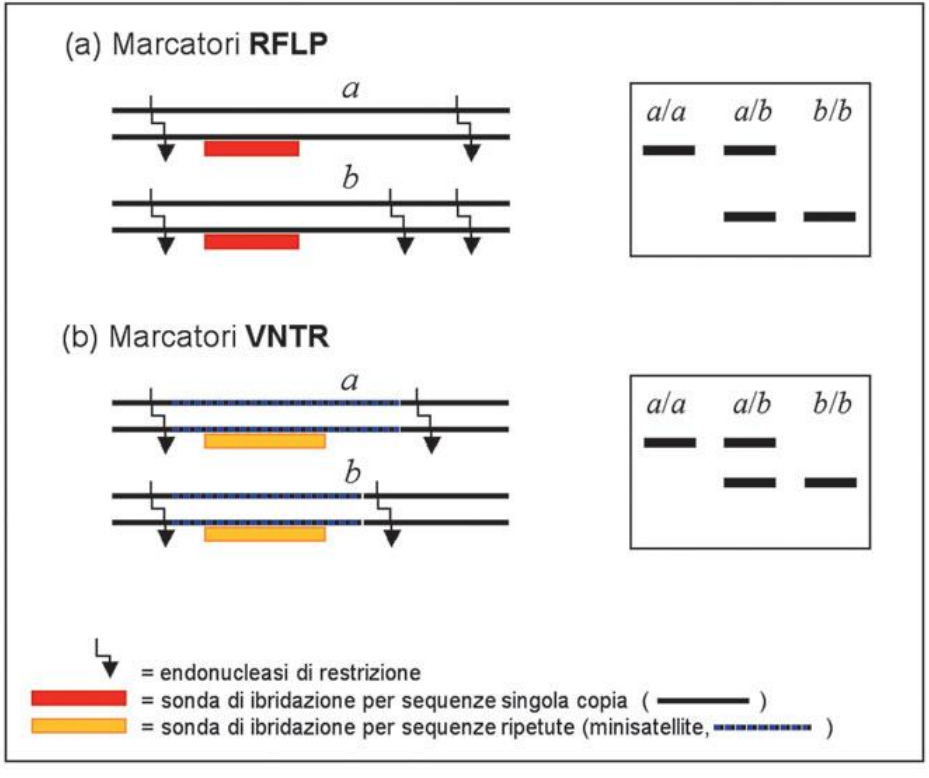
I minisatelliti sono unità di un motivo di base 10-50 ripetute in tandem, affiancata da siti di restrizione di DNA conservati. Il profilo elettroforetico dei minisatelliti è composto da molte bande, di solito entro un intervallo di dimensioni 4-20 kb. Il profilo viene generato utilizzando sonde EmultilocusG comuni che sono in grado di ibridarsi alle sequenze dei minisatelliti. Le sonde specifiche possono essere sviluppate con il clonaggio dei frammenti di restrizione del DNA. La variazione del numero di ripetizione unità, genera il polimorfismo.

Minisatellites (VNTR) – Variable number of Tandem Repeats



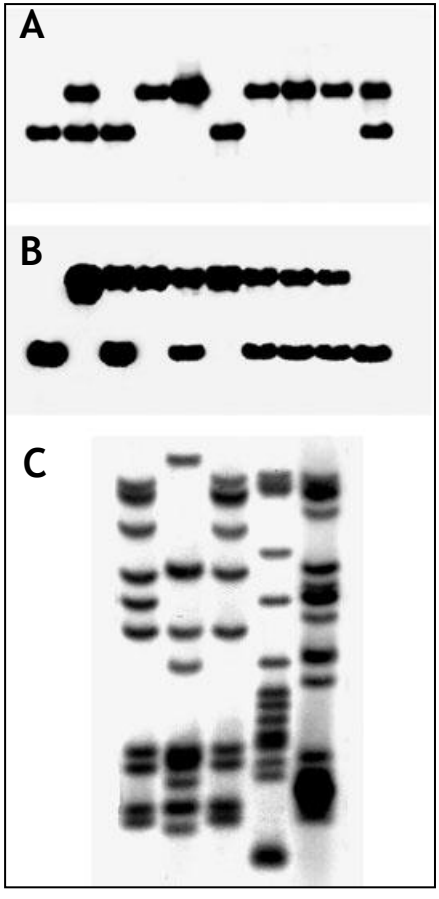


MARCATORI RFLP



VNTR: variable number of tandem repeats- numero variabile di sequenze ripetute o minisatelliti.
La differenza con gli RFLP sta nel tipo di sonda utilizzata.
Il polimorfismo VNTR deriva dal numero di sequenze semplici derivate in tamdem tra due siti di restrizione (da 10 a 60 bp)

MARCATORI RFLP



Esempi di profili RFLP
Ottenuti con sonde singolo-locus
in una popolazione segregante (A, B)
e con sonda multi-locus (C).

Vantaggi

- Altamente polimorfici
-Altamente riproducibili

Svantaggi

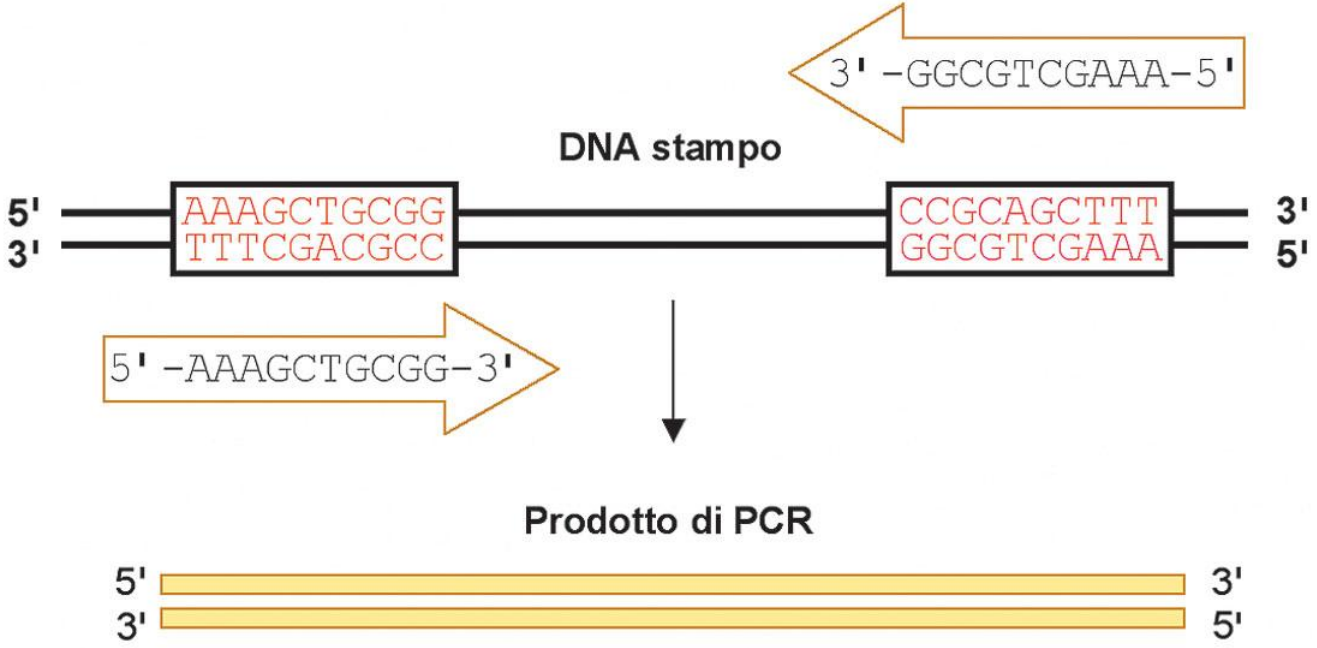
- Come gli RFLP
- Necessitano di grosse quantità di DNA di buona qualità
- Si utilizza un isotopo radioattivo
- Costosi
- Tecnica laboriosa e lunga
- Non individuano le mutazioni puntiformi

RAPD – Random Amplified Polymorphic DNA

RAPD sono frammenti di DNA amplificati mediante PCR utilizzando brevi primer casuali sintetici (generalmente 10 bp). Questi oligonucleotidi fungono da innesco sia forward che revcerse, e di solito sono in grado di amplificare da 1 a 10 frammenti di siti genomici contemporaneamente. Frammenti amplificati, di solito sono grandi da 0,5 a 5 kb, vengo separati mediante elettroforesi su gel di agarosio, e i polimorfismi vengono rilevati, con intercalanti del DNA. I polimorfismi sono fondamentalmente legati alla sequenza del primer e più raramente alla dimensione del frammento amplificato.

MARCATORI MOLECOLARI BASATI SU TECNICHE DI AMPLIFICAZIONE (PCR-DERIVATI)

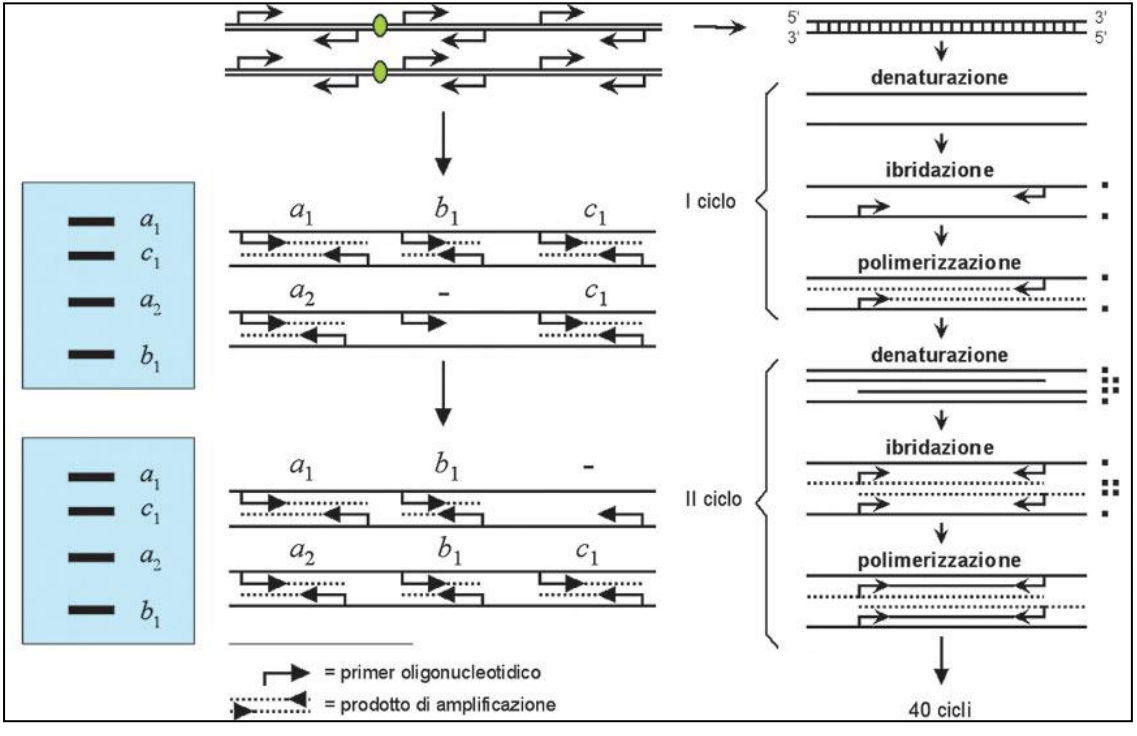
MARCATORI RAPD e AP-PCR



Analisi di marcatori RAPD con primer decamerici (10-*mer*) casuali.

RAPD primer 10mer con sequenza casuale; AP-PCR primer universale 13 mer

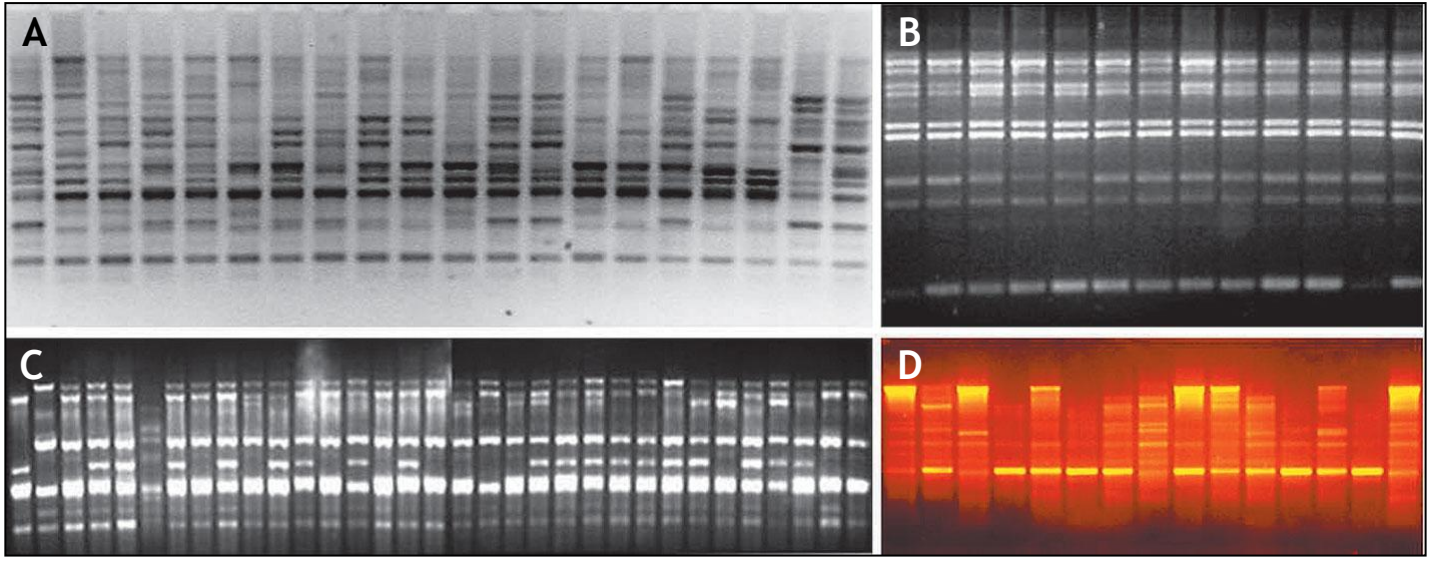
MARCATORI RAPD e AP-PCR



Vantaggi
-Esecuzione rapida
- Poco DNA necessario
- Molto abbondanti nel genoma
- Non è necessario conoscerne la sequenza

Svantaggi
- Bassa riproducibilità
-Non sono «locus specifici»
-Dominanti ma non in termini stretti
-Stesse bande possono essere diversi marcatori

MARCATORI RAPD e AP-PCR



Esempi di profili RAPD:
A) landrace di radicchio (primer OPA1);
B) popolazione segregante di mais (primer OP-B20);
C) linea inbred di mais (primer OP-C7);
D) landrace di radicchio (primer M13).

Specie	Motivo ripetuto
Arabidopsis	AT, AG, GA, CT, TC, CA
Orzo	AT, CT, TG
	TCT, CTT, TGC, ATT
Citrus spp.	ATT, (TAT) (TAG)
Conifere	CA
Vite	GA, GT, AG
Mais	CT, AG, CA, AC, GA
Riso	GA, GT, AT, AG, AC
	GGT, AAC, AAG
Sorgo	AT, ATT
Soia	AT, CA, CT, TA, TAT
Girasole	GT, GA, ATT, GATA
Pomodoro	CAA, CAG
Frumento	GA, CT, CA,
	(AT) (GT)

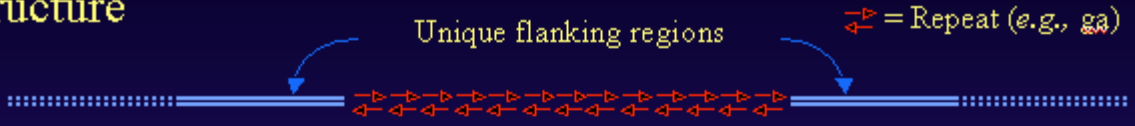
Microsatellites (SSR) – Simple Sequence repeat

Si tratta di ripetizioni di un breve motivo di base di lunghezza generalmente compresa tra 1 e 6 bp.

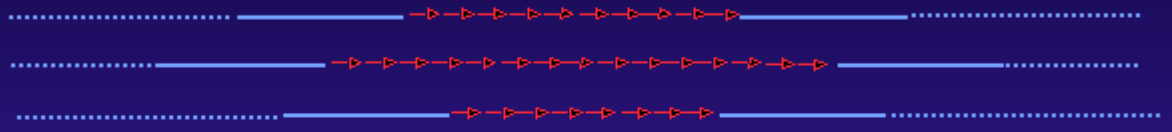
La tecnica si basa sull'osservazione che le sequenze fiancheggianti un determinato *locus* microsatellite nel genoma sono conservate all'interno delle specie, fra specie all'interno di un genere e, più raramente anche tra generi affini.

Conoscendo le sequenze fiancheggianti il microsatellite, è dunque possibile sintetizzare due *primers* per l'amplificazione selettiva di singoli *loci* microsatelliti.

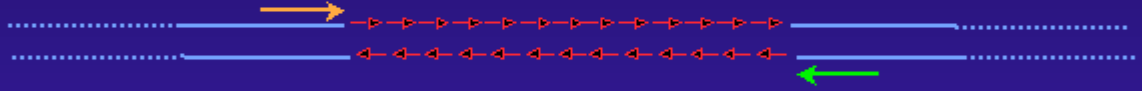
Structure



Number of repeats is highly variable among individuals



Design primers (⇄) complementary to flanking regions



Amplify repeat region by polymerase chain reaction

Analyze PCR products by polyacrylamide gel electrophoresis

Marker is codominant and highly genetically informative

17.7 MARCATORI MOLECOLARI BASATI SU TECNICHE DI AMPLIFICAZIONE (PCR-DERIVATI)

MARCATORI SSR

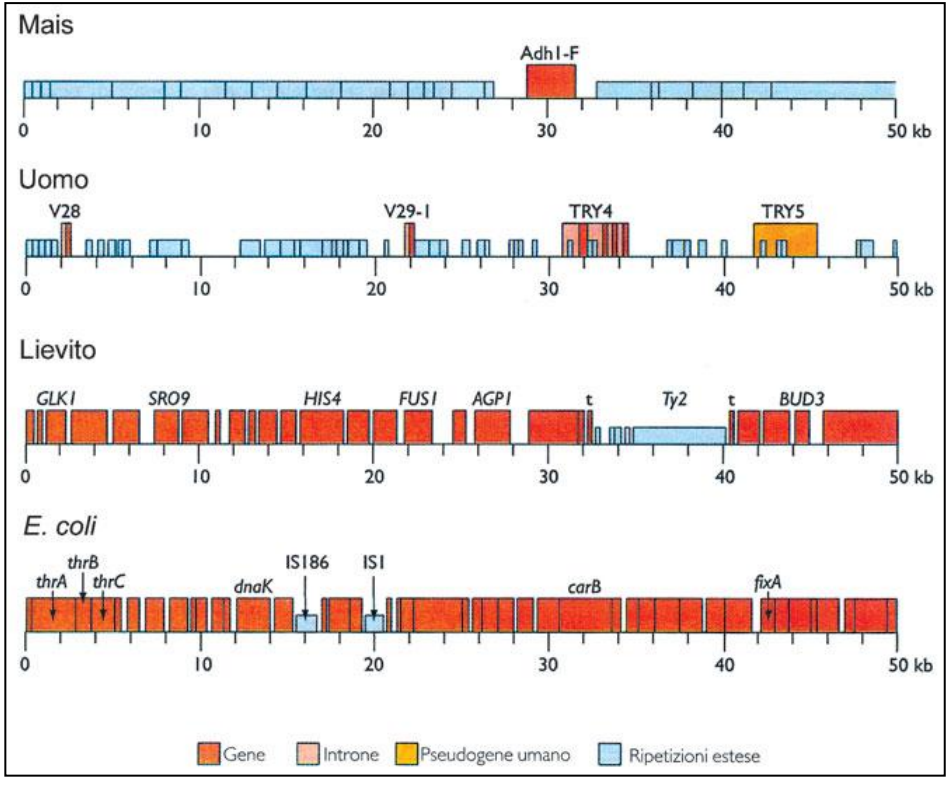


Figura 17.22
Confronto tra regioni di 50 kb appartenenti ai genomi di mais, uomo, lievito e *E. coli* (modificata da: T.A. Brown 1999).

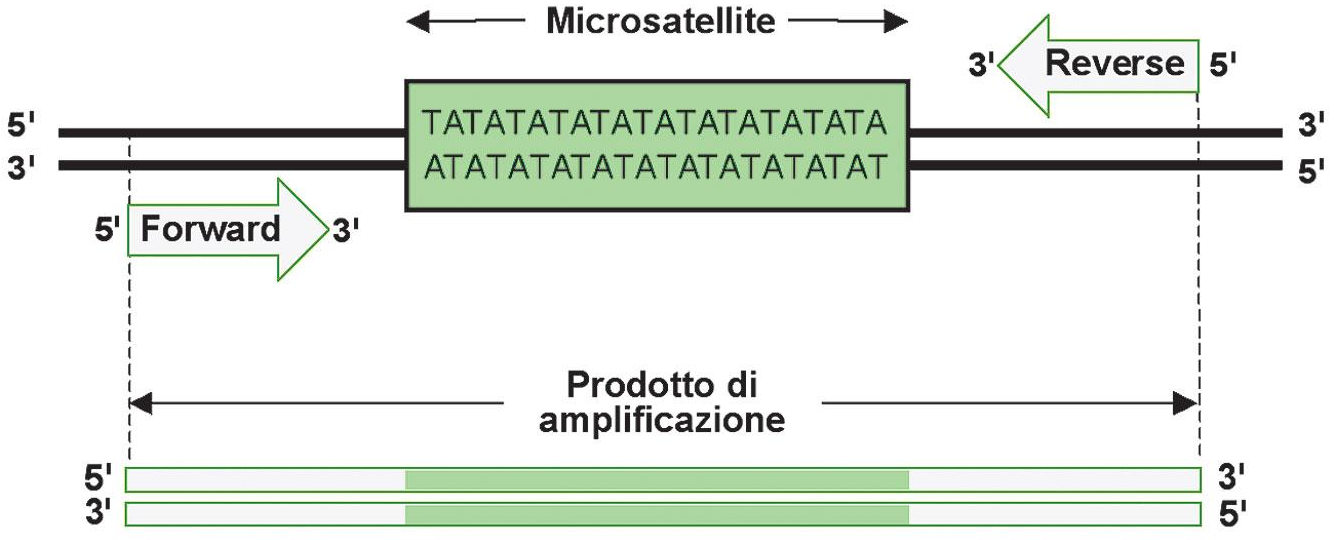
17.7 MARCATORI MOLECOLARI BASATI SU TECNICHE DI AMPLIFICAZIONE (PCR-DERIVATI)

MARCATORI SSR

Specie	$(AC)_n$		$(GA)_n$	
	No. totale	Distanza (kb) tra due SSR	No. totale	Distanza (kb) tra due SSR
Arabidopsis	350	430	615	244
Riso	1.000-1.230	365-450	1.360-2.000	225-330
Frumento	23.000	292-704	36.000	212-440
Mais	12.000	110-1.000	18.000	168-710
Colza	15.000	440	–	100
Tabacco	–	150	–	170
Pino	38.000-120.000	220-520	46.000-60.000	430-470
Abete	–	180	–	150

Tabella 17.6
Frequenza e distribuzione di microsatelliti nei genomi di alcune piante.

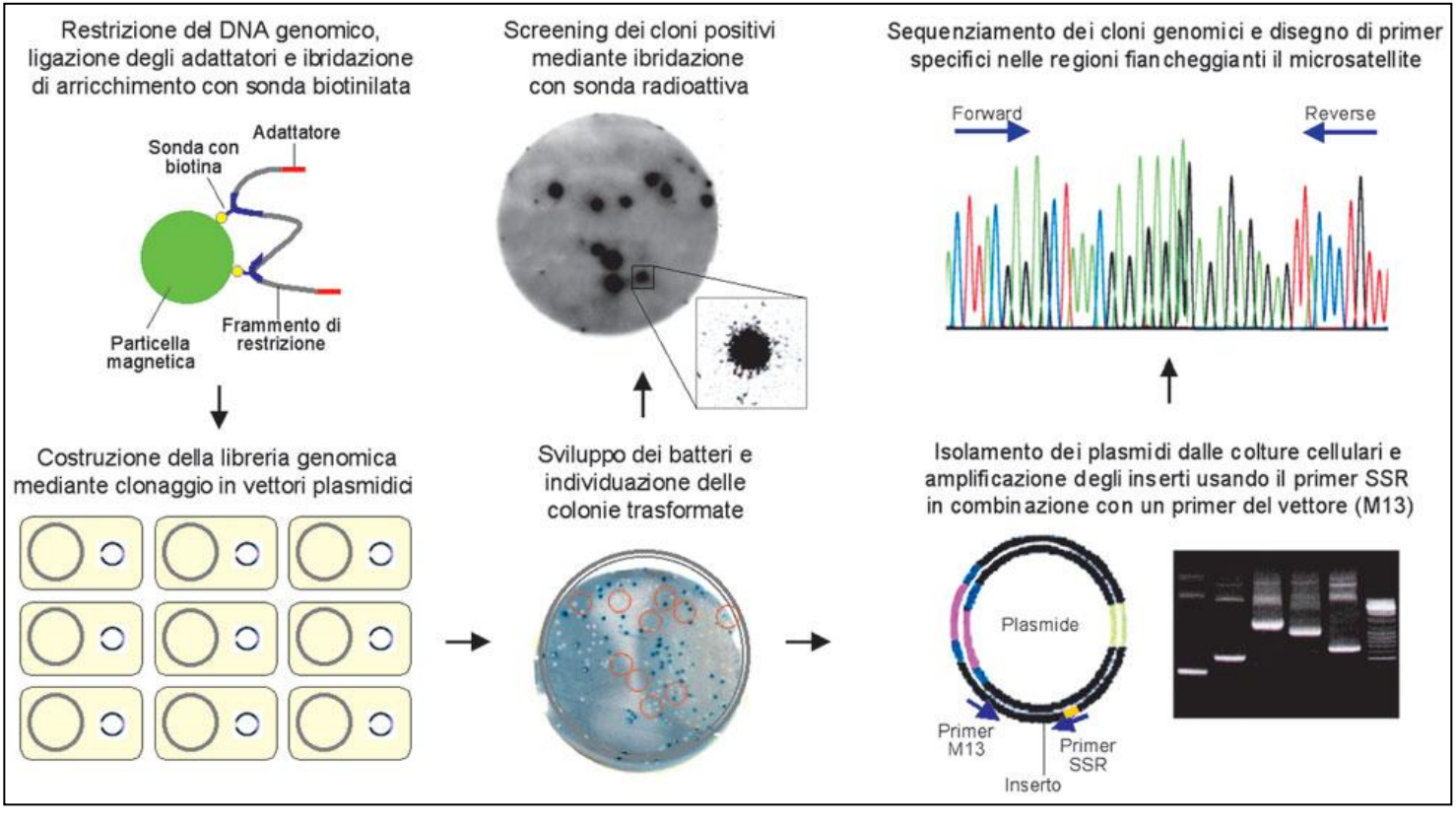
MARCATORI SSR (SINGLE SEQUENCE REPEATS)



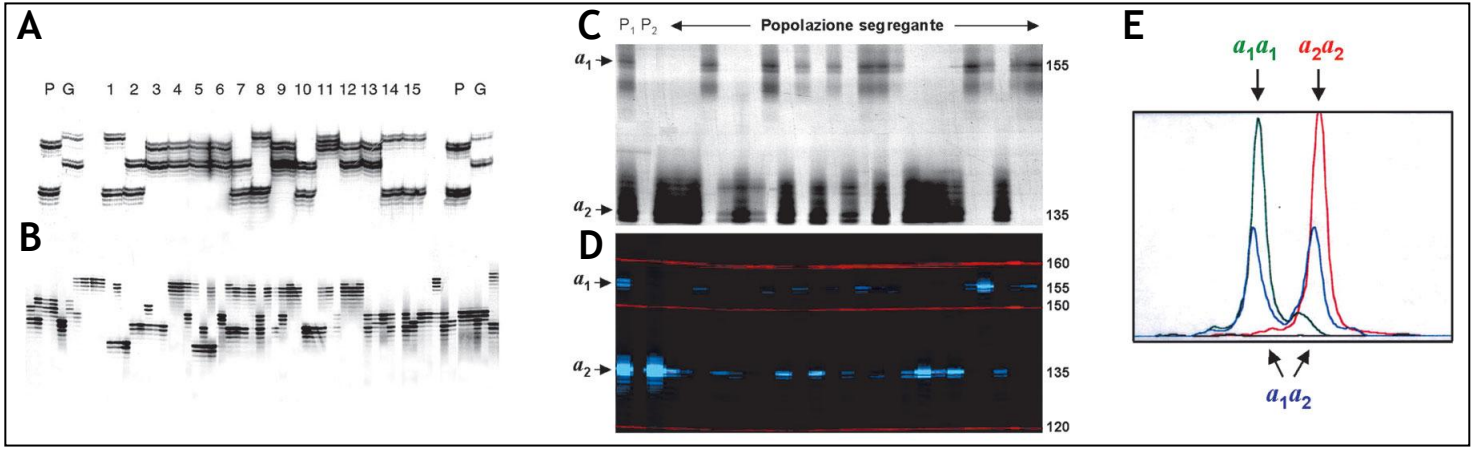
Necessità di conoscere le regioni fiancheggianti il microsatellite per disegnare i primers
Due strategie:

-costruzione di una libreria genomicae selezione dei cloni contenenti il microsatellite mediante lo screening con sonde sintetice aventiun determinato motivo SSR;

-amplificazione di frammenti di restrizione genomici usando un primer Inter-SSR in combinazione con primer adattatore specifico e ricostruzione delle regioni fiancheggianti il microsatellite entrambe richiedono il sequenziamento

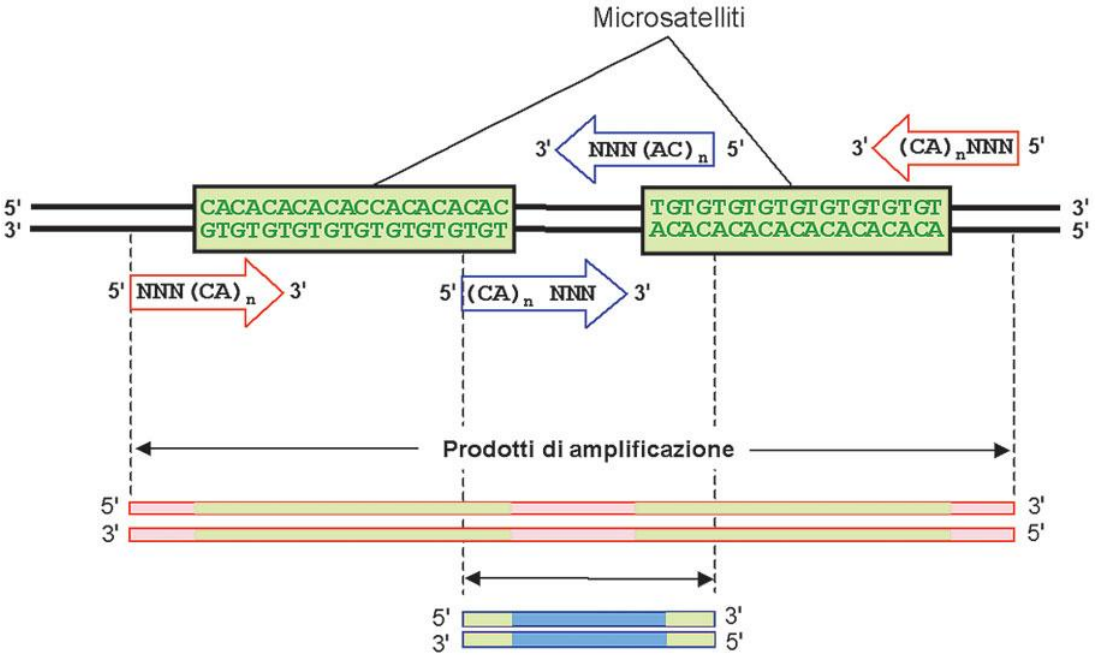


MARCATORI SSR



Esempi di profili SSR in 15 cultivar di vite (A) originatesi per ibridazione tra Pinot nero (P) e Gouais bianco (G) e in oltre 60 piante appartenenti ad una popolazione locale di mais (Marano) (B). Esempi di profili SSR radioattivi e fluoresceinati (C, D). Rilevazioni di alleli microsatelliti in genotipi omozigoti ed eterozigoti mediante analisi di frammenti con sequenziatore (E).

MARCATORI Inter-SSR



Vantaggi
- Codominanti
- Molto abbondanti nei genomi eucariotici
- Distribuiti casualmente sul genoma anche se distribuiti preferenzialmente nelle regioni «low-copy»
- Poco DNA necessario
- Singolo locus ma possibilità di multiplex
-Automatizzabili

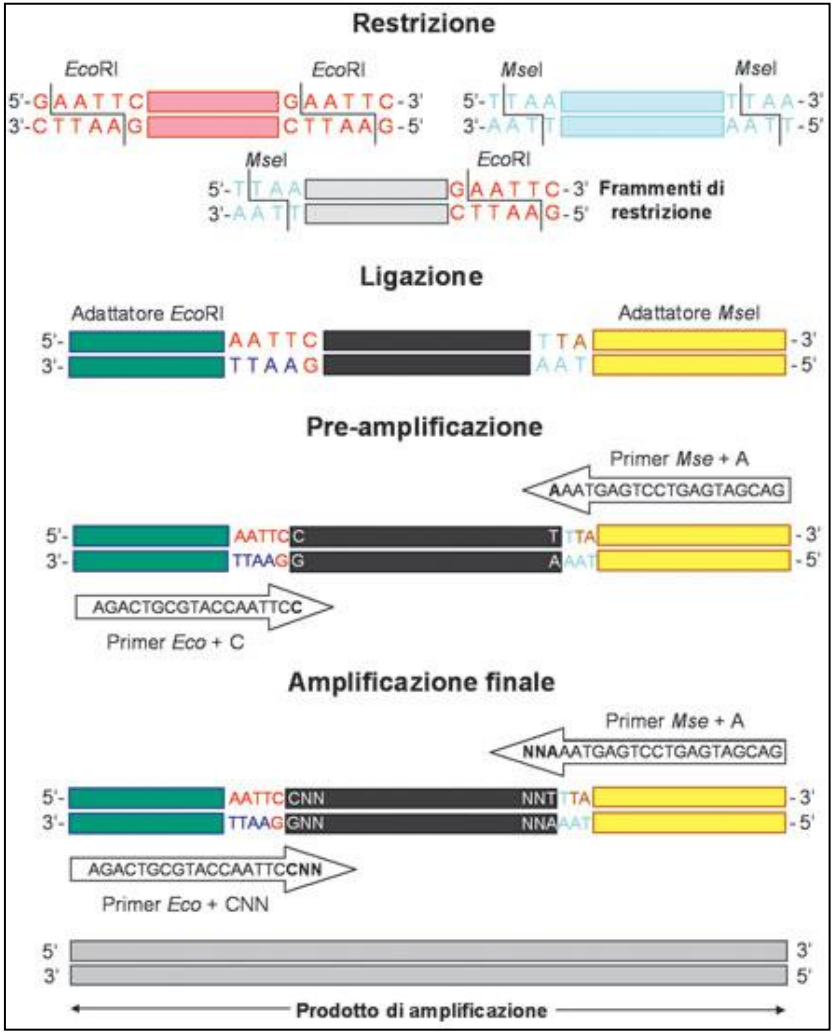
Svantaggi
- Alto costo di sviluppo
- Codominanti
- Omoplasia
- Errori della DNA polimerasi

Amplified Fragments Length Polymorphisms

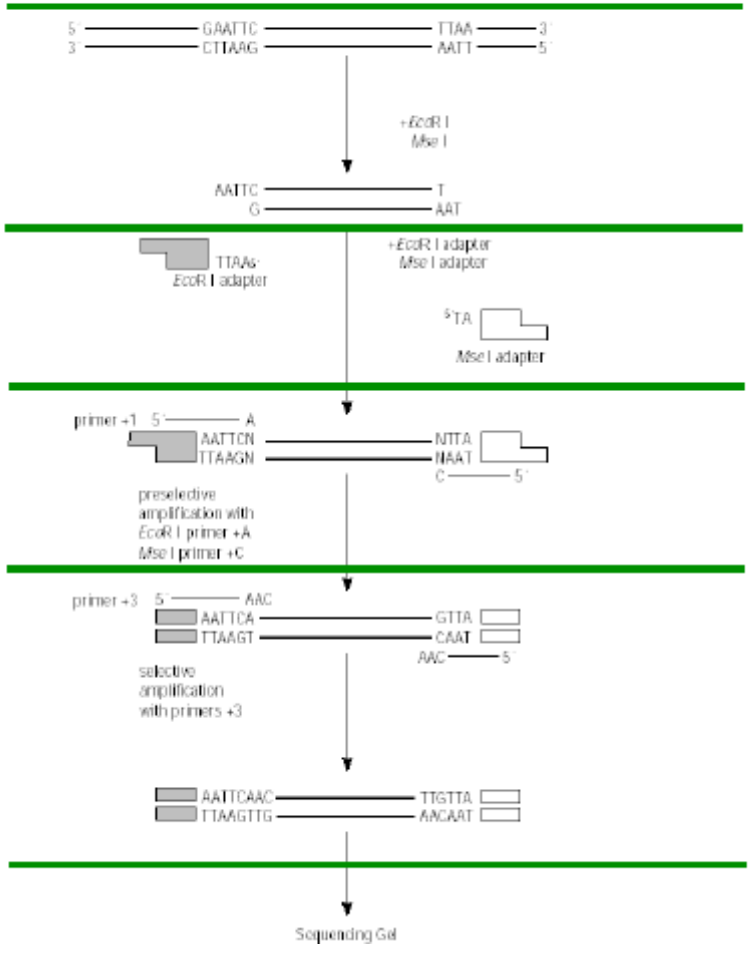
Marcatori evidenziati con l'amplificazione selettiva via PCR di frammenti di restrizione del DNA

Identificano polimorfismi dovuti sia ad inserzioni/delezioni che a sostituzioni di basi

Preamplificazione: Primers complementari ai siti di restrizione ed agliadattatori + 1 base selettiva
Amplificazione: Primers complementari ai siti di restrizione ed agliadattatori + 2 o tre basi selettive



AFLP – Amplified Fragment Lenght Polymorphism



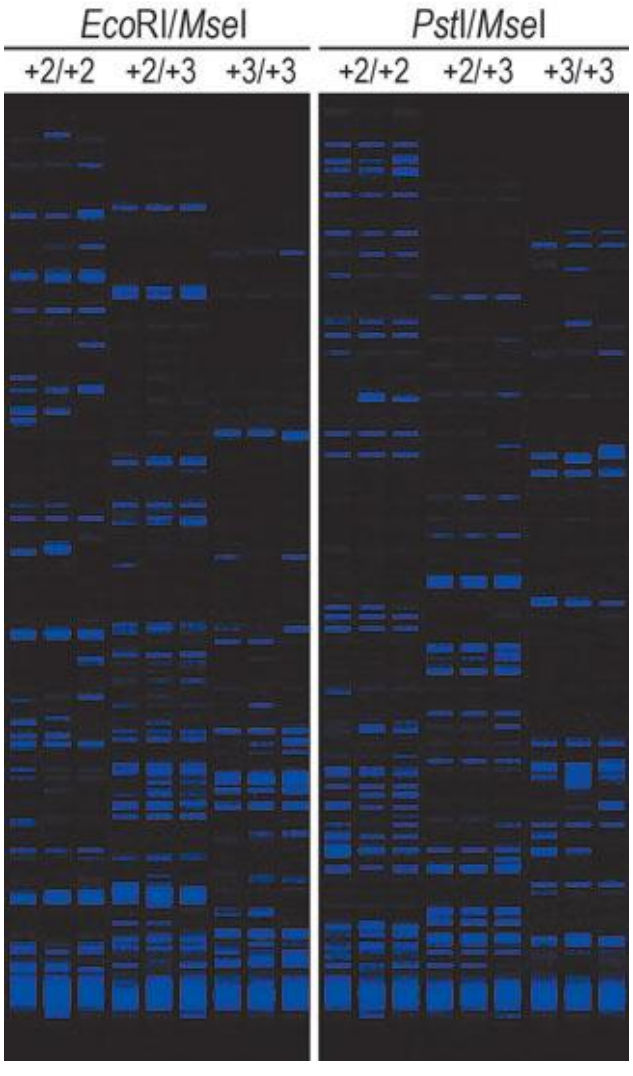
1. DIGESTIONE

2. LIGAZIONE

3. AMPLIFICAZIONE 1

4. AMPLIFICAZIONE 2

MARCATORI AFLP



Vantaggi

-Abbondanti
- Considerevolmente riproducibili
- Multi locus
- Automatizzabili
- Altamente polimorfici

Svantaggi

-Dominanti
-Non sempre uniformemente distribuiti sul genoma
- Necessitano di DNA ad alto peso molecolare
- Possibile confondere loci simili
- Procedura elaborata

Marcatori Molecolari

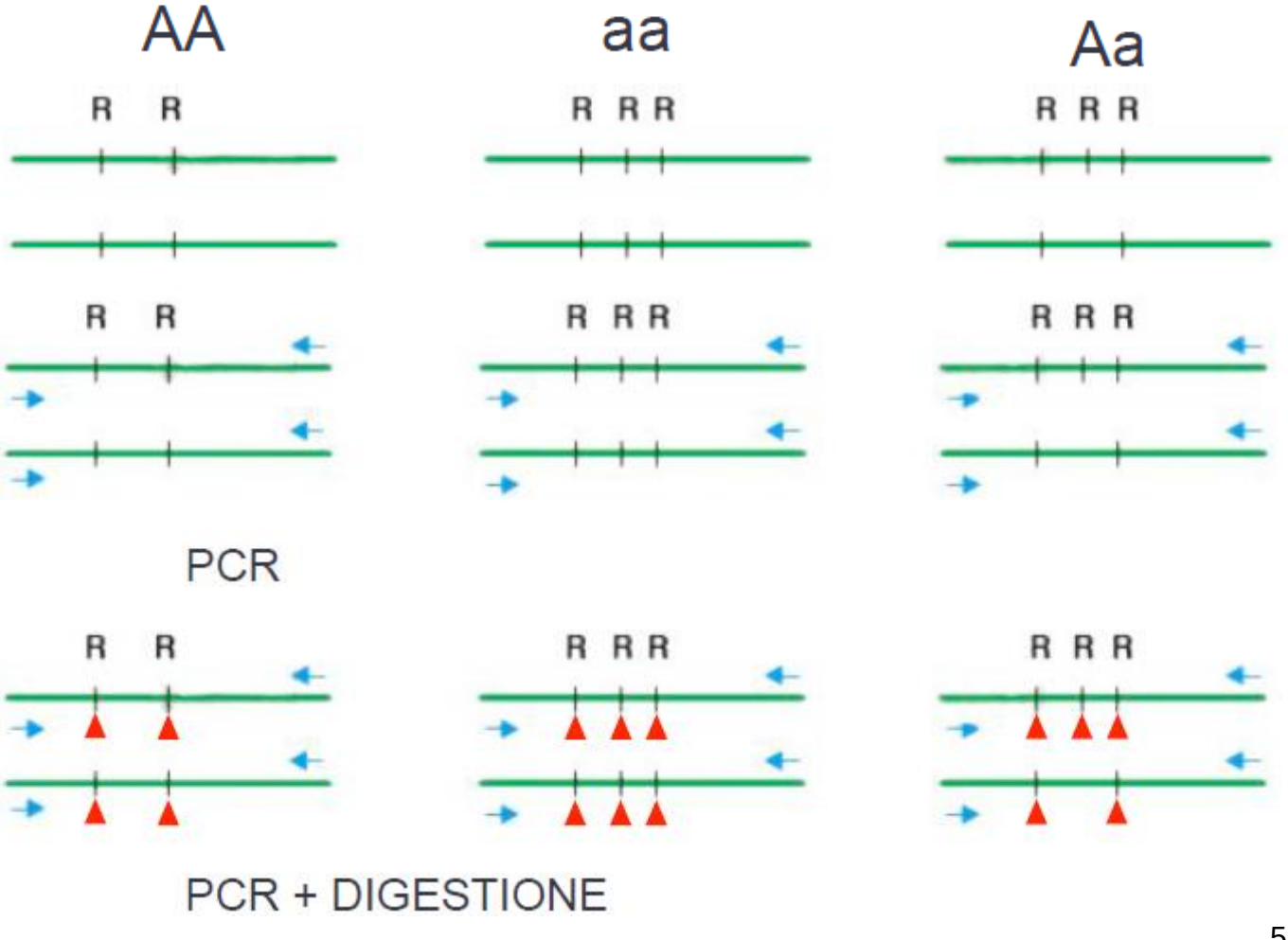
CAPS – Cleaved Amplified Polymorphic Sequence

Sequenze polimorfiche amplificate e ristrette

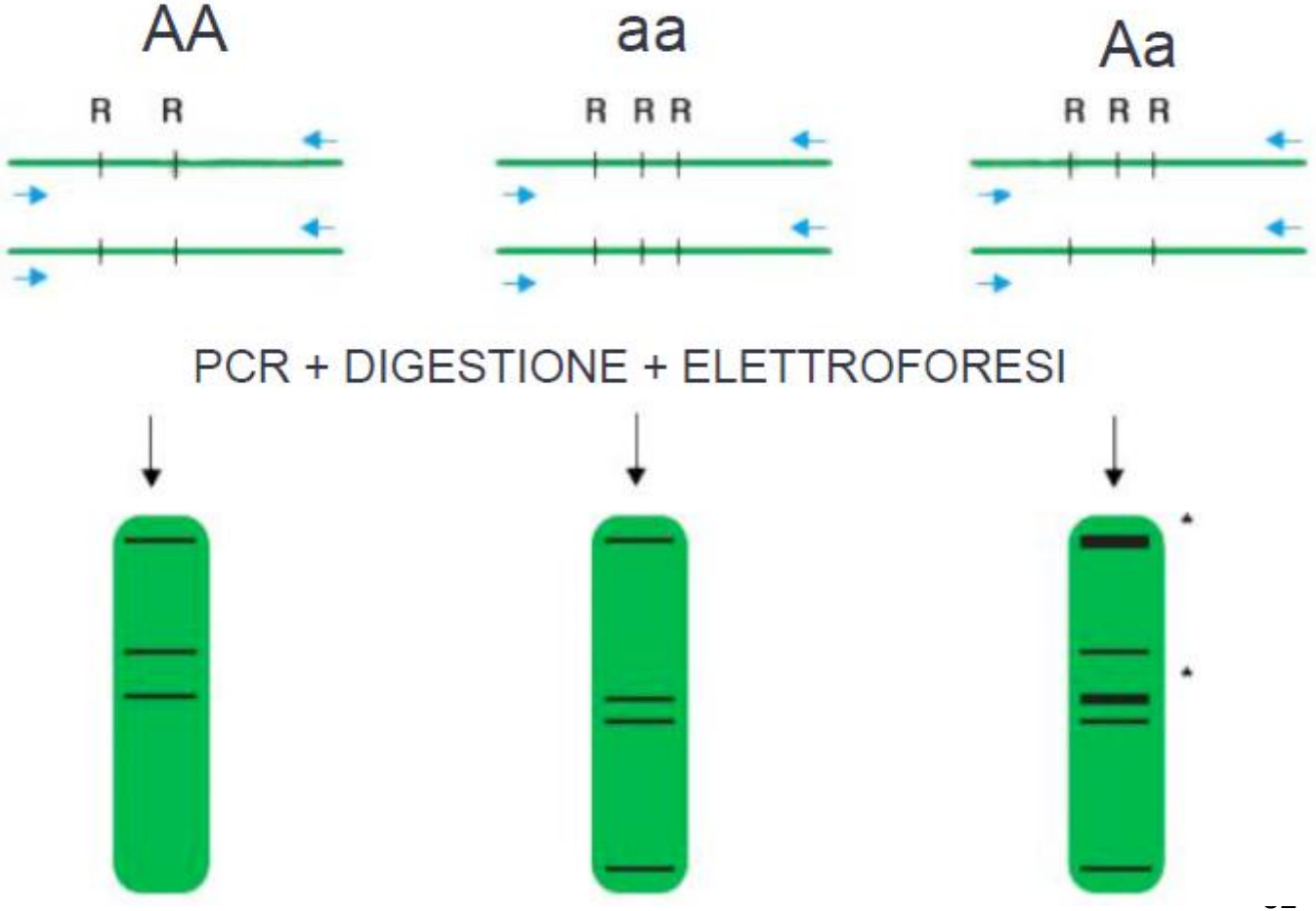
Marcatori molecolari che si evidenziano con amplificazione mediante PCR e successiva digestione dei prodotti di amplificazione con enzimi di restrizione

Identificano polimorfismi dovuti a sostituzioni di basi

CAPS – Cleaved Amplified Polymorphic Sequence



CAPS – Cleaved Amplified Polymorphic Sequence



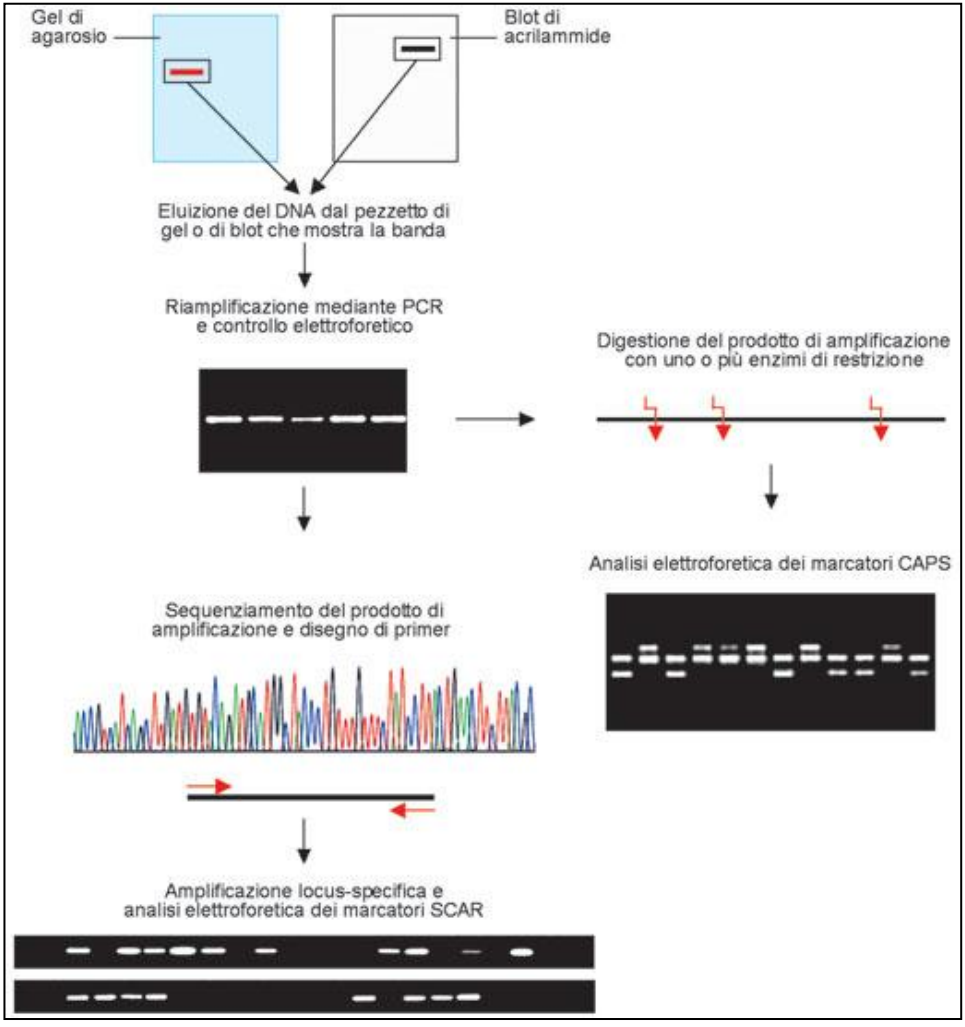
Vantaggi

- Poco DNA necessario
-Codominanti
- Semplice procedura
-Poco costosi

Svantaggi

- Necessaria la conoscenza della sequenza
-Dimensione dei frammenti limitante

Cleaved Amplified Polymorphic Sequences (CAPS) e Sequence characterized amplified regions (SCAR)



Gli SCAR, si basano sull'amplificazione selettiva, mediante PCR, di loci genomici a sequenza nota il cui polimorfismo deriva da mutazioni INDEL (INserzione/DELezione).

E' un metodo estremamente rapido e pratico, in grado di rilevare,
specificamente, la presenza di frammenti di diverse dimensioni con un semplice esperimento di PCR. Necessita solamente di un accurato disegno dei primers.

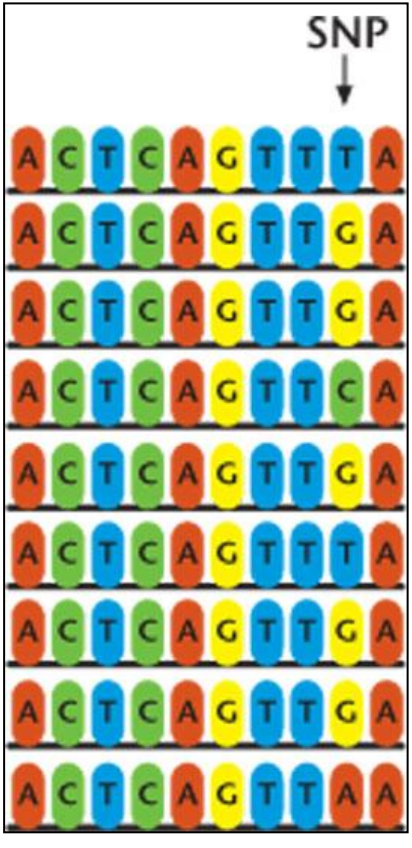
Vantaggi
-Veloci e facili
-Altamente riproducibili
- Locus specifici
- Poco DNA necessario
Svantaggi
- Necessario conoscere la sequenza

Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

Gli SNP sono la base molecolare per la maggior parte delle differenze fenotipiche tra gli individui
Uno SNP è la più comune variazione genetica
Gli SNP sono biallelici.

Gli SNP nelle regioni intergeniche possono:
Avere nessun effetto I
Influenzare I segnali regolatori
Interferire con I siti di splicing

Gli SNP nelle regioni codificanti possono:
Cambiare un codone di un amminoacido con uno 'sinonimo' generando nessun effetto fenotipico.
Cambiare un codone di un amminoacido in modo conservativo o non conservativo



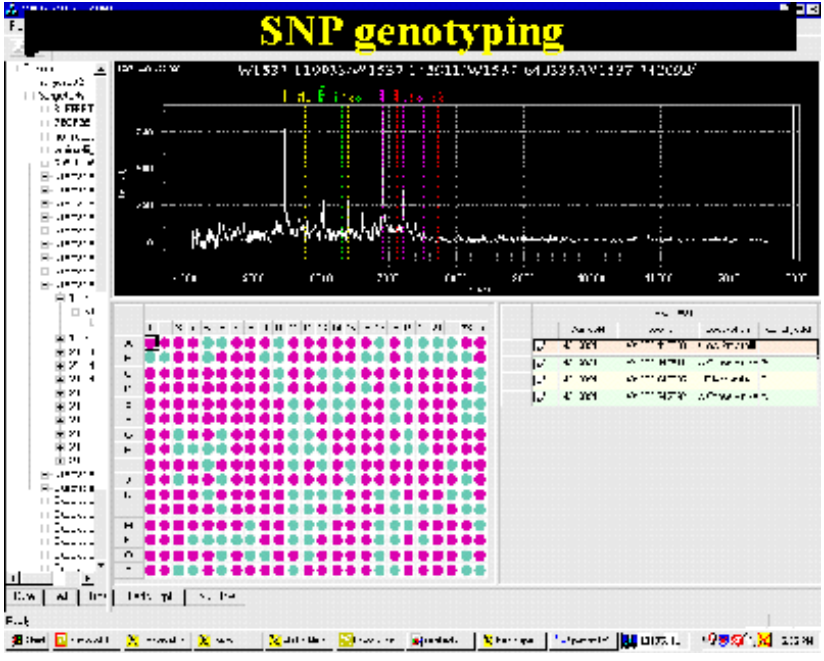
Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

-In ogni locus: massimo 4 alleli (di solito 2)

- grandissimo numero di loci SNP

- Spesso molti SNP per gene, anche dentro esoni

-Non richiedono elettroforesi, per cui veloci ed automatizzabili



Vantaggi

- Individuano mutazioni puntiformi
-Automazione
- Alta processività
-Altamente discriminanti in casi di bassa variabilità del germoplasma

Svantaggi

- Costi relativamente elevati

Qualità comparative delle tecniche per i marcatori molecolari

-Libertà degli effetti pleiotropici dell'ambiente
- I marcatori del DNA generano dati omogenei
- Molti marcatori morfologici e biochimici sono sotto controllo poligenico
- Molti marcatori morfologici e biochimici sono affetti da epistasia e plasticità
-Potenzialmente esistono infiniti marcatori molecolari indipendenti rispetto a quelli biochimici e morfologici
-Le caratteristiche del DNA possono essere conteggiate in modo discreto (conteggio delle basi) rispetto ai marcatori biochimici e morfologici

I marcatori molecolari sono selettivamente neutrali:
non sono associati necessariamente ad una variazione misurabile del fenotipo (variazione neutra di DNA)

mappe

posizione di geni e/o marcatori nel genoma

genetiche:

- ottenute mediante incrocio o analisi dei pedigrees
- basate sulle frequenze di ricombinazione

fisiche:

- ottenute con tecniche di biologia molecolare.
- basate sulle distanze nucleotidiche

mappe fisiche

- *mappe di restrizione*:

indicano i siti di taglio degli enzimi di restrizione

rapide e dettagliate, ma inapplicabili a genomi grandi

- *FISH*:

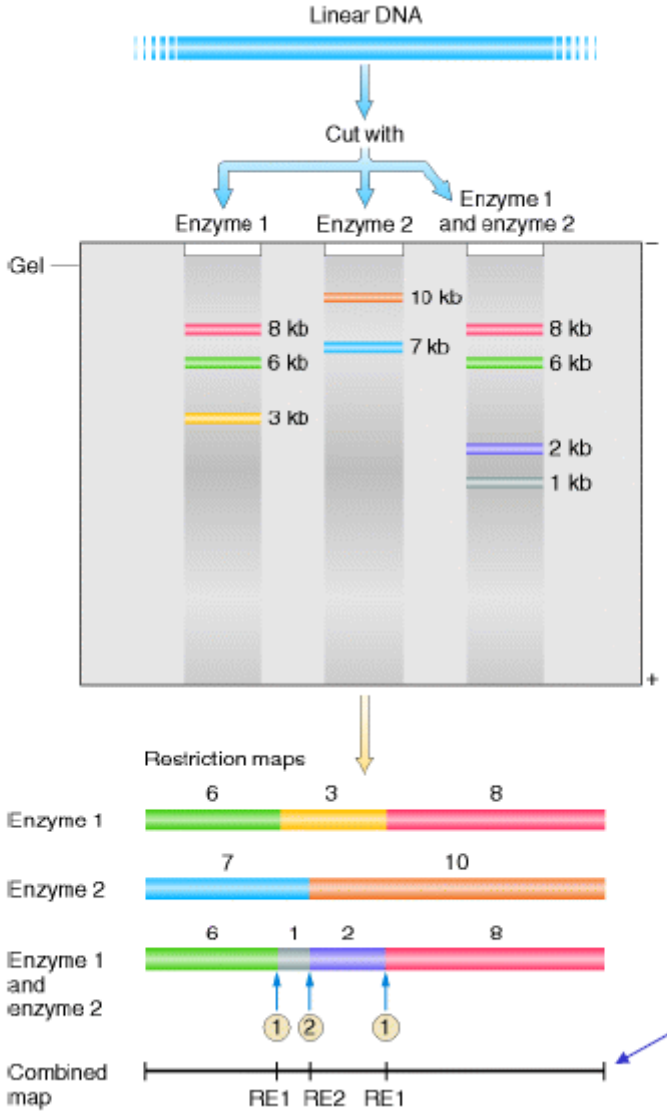
la posizione dei marcatori è determinata ibridando sonde fluorescenti sui cromosomi interi

poco accurata, ma lenta e tecnicamente difficile

mappe di restrizione

singole digestioni del DNA, unite a doppie digestioni e a digestion parziali, permettono la ricostruzione della posizione relativa di tutti i siti di restrizione

Lunghezza sequenza palindromica	Probabilità di trovare il sito di restrizione
4	$(1/4)^4$ = 1 ogni 256 bp
5	$(1/4)^5$ = 1 ogni 1024 bp
6	$(1/4)^6$ = 1 ogni 4096 bp
8	$(1/4)^8$ = 1 ogni 65.536 bp
n	$(1/4)^n$



Il risultato è mappa con le posizioni dei siti di restrizione

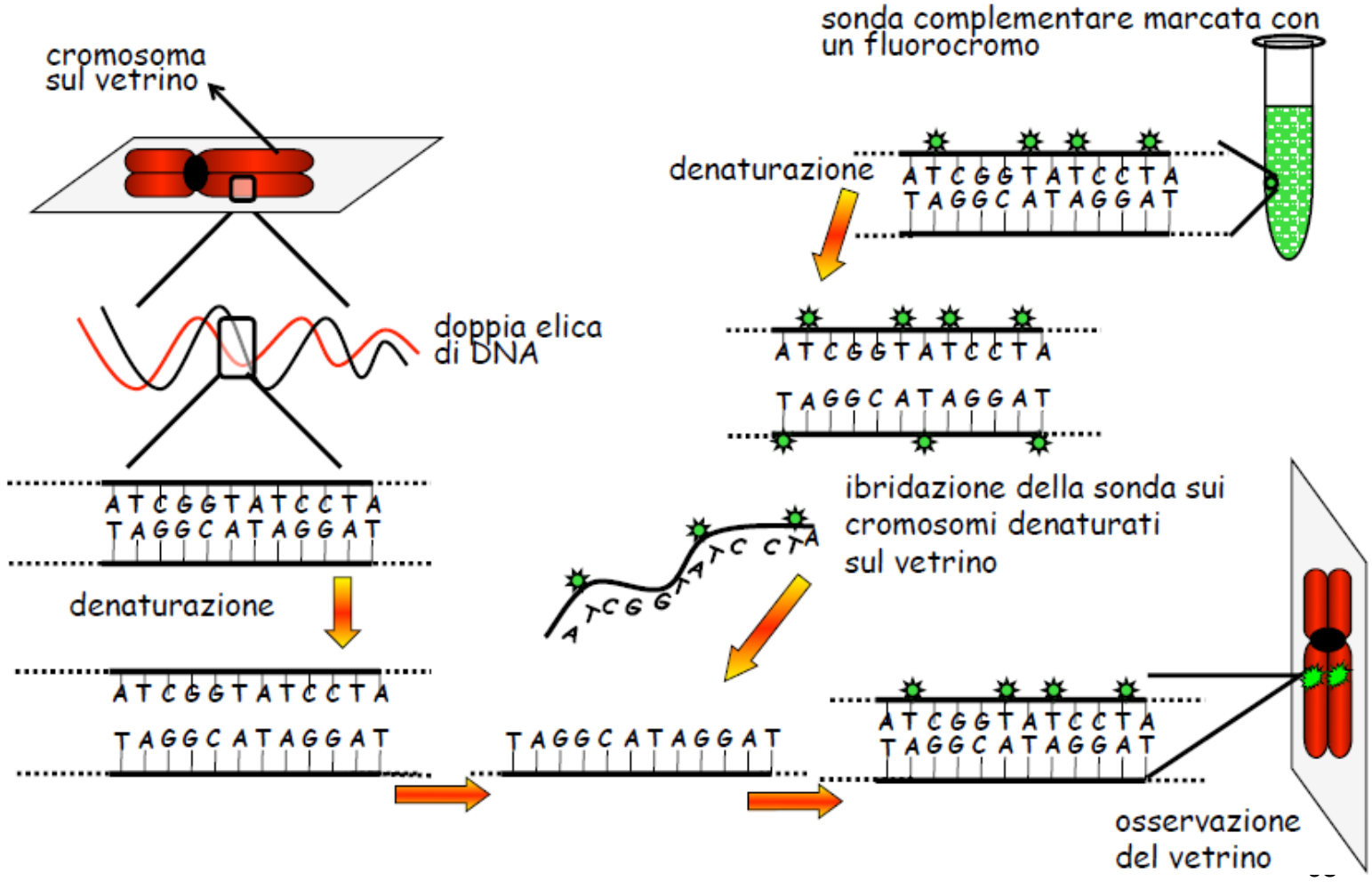
mappe FISH

FISH = Fluorescent *In Situ* Hybridization

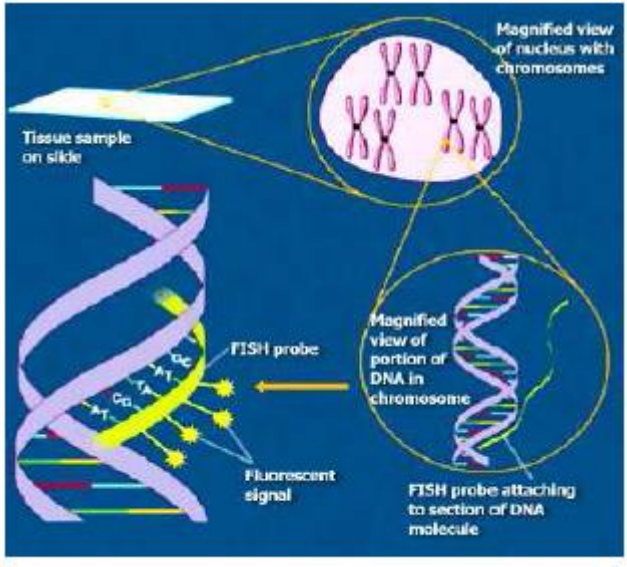
la posizione dei marcatori è determinata ibridando sonde fluorescenti sui cromosomi interi (metafasici o anche meno condensati)

• tecnica di citogenetica molecolare che permette di localizzare ed individuare specifiche sequenze di acido nucleico su cromosomi, su nuclei interfasici o sezioni di tessuti ottenuti da qualunque materiale biologico

• sfrutta la capacità di molecole a singolo filamento, con sufficiente grado di complementarietà, di ibridare, ossia di formare una molecola a doppio filamento
• Correlazione tra DNA-cromosomi


cromosoma
sul vetrino
doppia elica
di DNA
ATCGGTATCCTA
TAGGCATAGGAT
denaturazione
ATCGGTATCCTA
TAGGCATAGGAT
sonda complementare marcata con
un fluorocromo
denaturazione
ATCGGTATCCTA
TAGGCATAGGAT
ATCGGTATCCTA
TAGGCATAGGAT
ibridazione della sonda sui
cromosomi denaturati
sul vetrino
ATCGGTATCCTA
TAGGCATAGGAT
TAGGCATAGGAT
ATCGGTATCCTA
TAGGCATAGGAT
osservazione
del vetrino

Mappe (FISH)



Il principio delle mappe FISH è l'ibridazione con sonde fuorescenti

Diagramma di flusso della FISH

PREPARAZIONE E FISSAGGIO VETRINI

PRETRATTAMENTI
RNAsi per diminuire il fondo
Permeabilizzazione con
proteasi, detergenti, acidi diluiti

Denaturazione con calore o ↑ pH

Preparazione e marcatura della sonda

Determinare condizioni ibridazione

IBRIDAZIONE
DNA competitore, sali,
formammide, dextran solfato

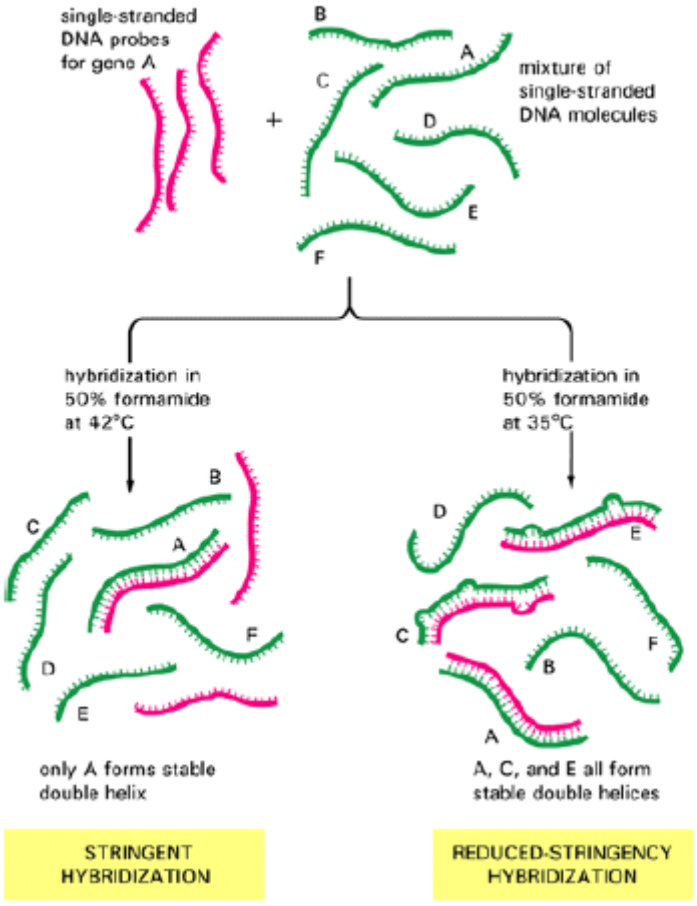
Lavaggi post-ibridazione

Chiusura dei vetrini e osservazione al m.o. a fluorescenza

Detection immunologica
Blocking, anticorpo, controcolorazione

Chiusura dei vetrini e osservazione al m.o. a fluorescenza

stringenza



La parametro più importante dell'ibridazione è la stringenza.

È regolata da temperatura e forza ionica

Stringenza

- alta stringenza → richiede elevata omologia tra sonda e bersaglio
  - elevata Temperatura
  - bassa concenrtrazione salina
  - presenza di denaturanti chimici

- bassa stringenza → è sufficiente bassa omologia tra sonda e bersaglio
  - bassa Temperatura
  - elevata [ ] salina
  - assenza di denaturanti chimici

Problema con sequenze ripetute

GISH Genomic in situ Hybridization

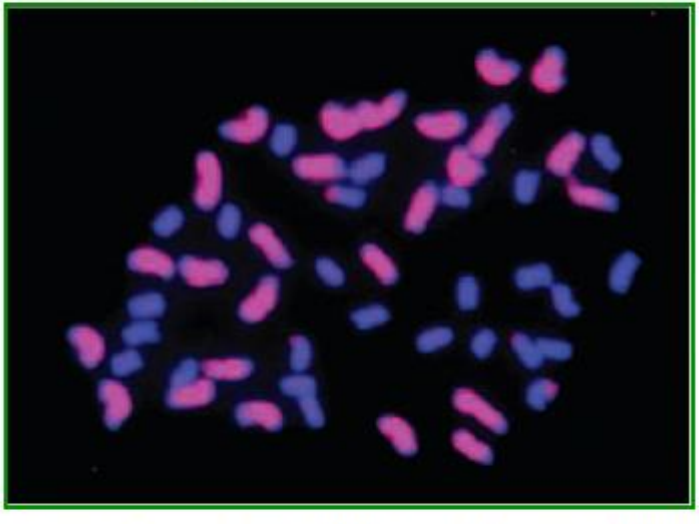
• L’ibridazione genomica in situ è un metodo per esaminare le relazioni tra genomi
• richiede l’ibridazione di sonde di DNA genomico totale su preparati cromosomici, seguito da rivelazione in fluorescenza

• Fornisce informazioni sulle similitudini del DNA di specie correlate e rivela la posizione fisica delle sequenze conservate sui cromosomi

• E’ uno strumento importante per la citogenetica vegetale differenziamento specie parentali in ibridi, studi sulla filogenia delle piante, ecc.

Con combinazioni appropriate di sonde si possono differenziare i cromosomi delle specie parentali negli ibridi e riconoscere i ricombinanti, valutare la natura dei riordinamenti cromosomici che si sono verificati e l' inserimento nel genoma di frammenti provenienti da cromosomi estranei.

Sonda ➡ *Gossypium sturtianum*



ibridazione su genoma di cellule somatiche dell'ibrido F1
(*G. hirsutum* × *G. sturtianum*)

SINTENIA

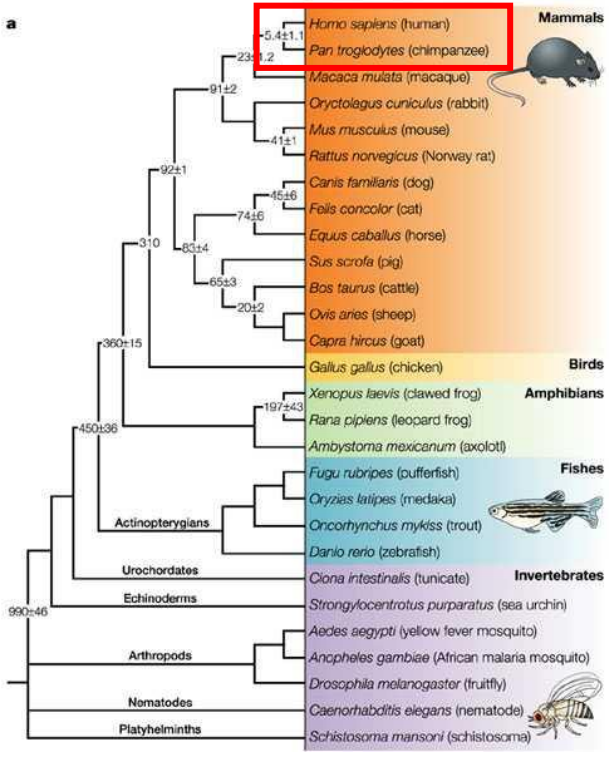
SINTENIA

- Dal greco = legati insieme
- Indica in genetica la presenza di due o più loci sullo stesso cromosoma
- Oggi il concetto è stato espanso per investigare l'**omeologia** (omologia residua tra cromosomi che in origine erano completamente omologhi)

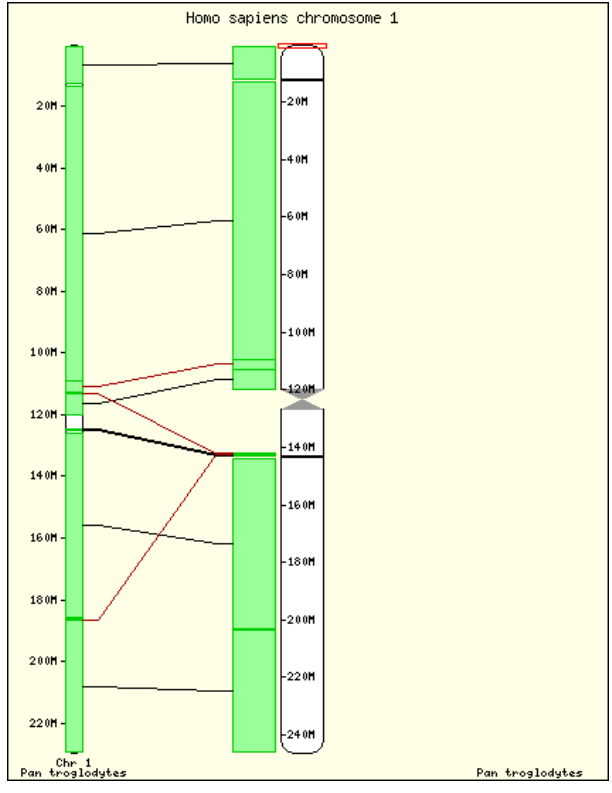
Nella maggior parte delle piante, l'evoluzione delle porzioni di genoma, piccole ma essenziali, che codificano per i geni ha proceduto con tempi relativamente lenti

-> sequenze di DNA intrageniche e organizzazione dei geni lungo i cromosomi sono riconoscibili

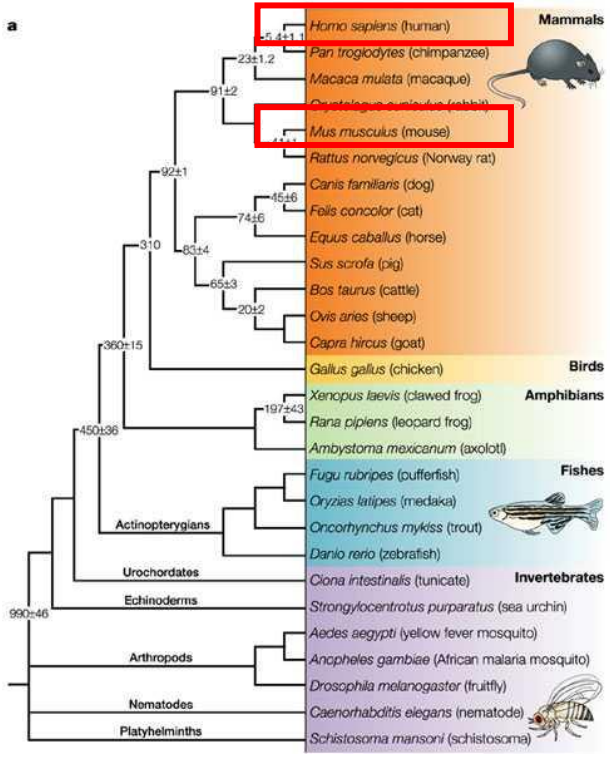
Molti fattori, come duplicazioni cromosomiche o segmentali, mobilità di sequenze di DNA (es. trasposoni), delezioni e riarrangiamenti localizzati, si sono sovrapposti a tale lenta evoluzione, causando molte deviazioni dalla co-linearità



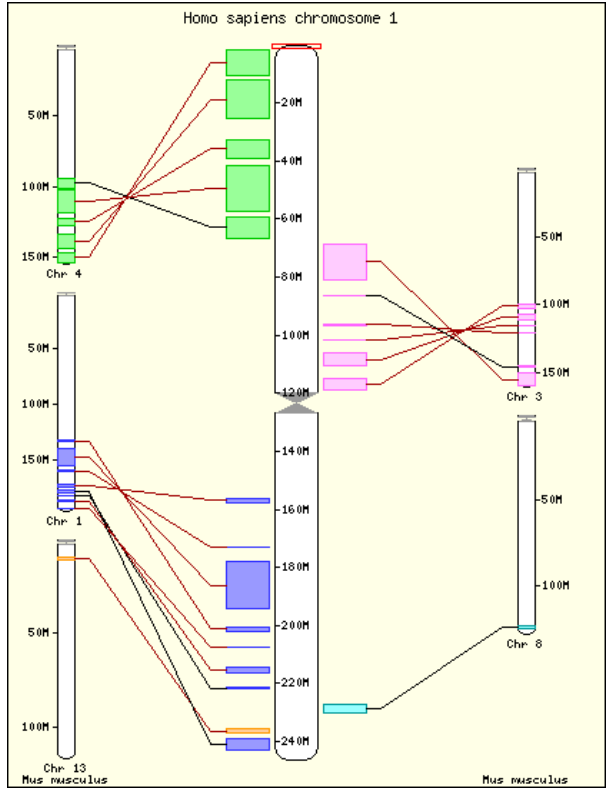
THE ORIGIN AND EVOLUTION OF MODEL ORGANISMS
Hedges, SB *Nature Reviews Genetics* **3**, 838 -849 (2002)



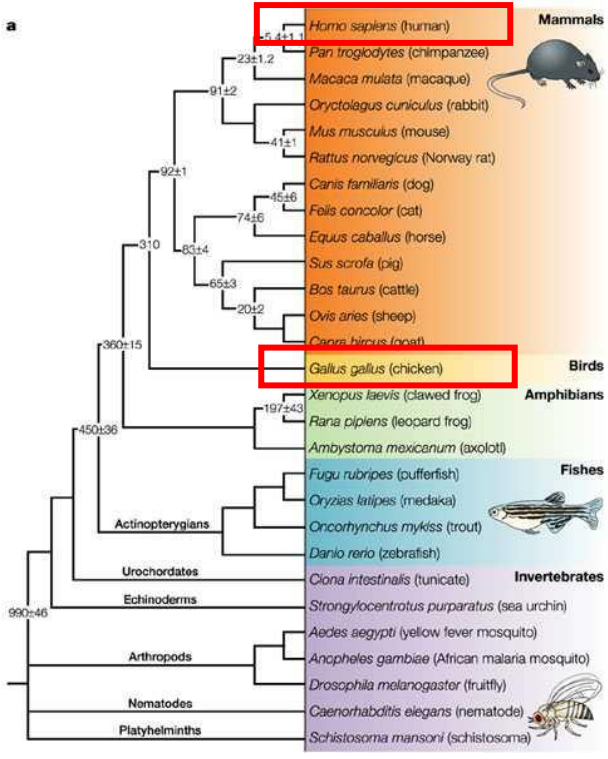
http://www.ensembl.org/



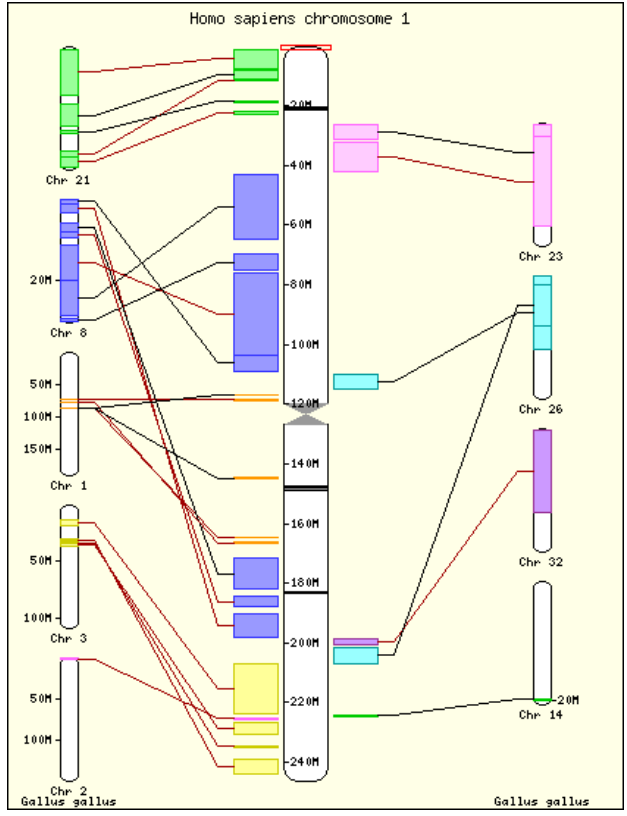
THE ORIGIN AND EVOLUTION OF MODEL ORGANISMS
Hedges, SB *Nature Reviews Genetics* **3**, 838 -849 (2002)



http://www.ensembl.org/



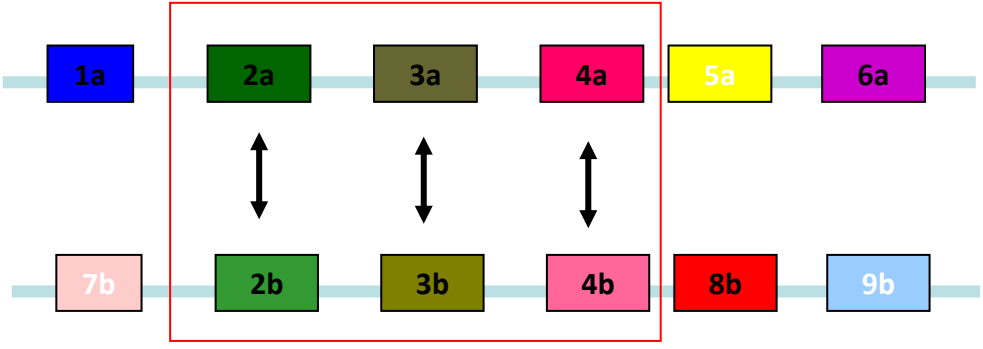
THE ORIGIN AND EVOLUTION OF MODEL ORGANISMS
Hedges, SB *Nature Reviews Genetics* 3, 838 -849 (2002)



http://www.ensembl.org/

Blocchi di sintenia

Organismo A



Organismo B

SORGO (diploide) e CANNA DA ZUCCHERO (autopoliploide)

si sono separati circa 5 milioni di anni fa

-> alto grado di colinearità

-> potenziale uso del genoma di sorgo per identificare geni ortologhi nella canna da zucchero

Theor Appl Genet (2000) 101:962–969 © Springer-Verlag 2000

C. Asnaghi · F. Paulet · C. Kaye · L. Grivet · M. Deu
J.C. Glaszmann · A. D'Hont

Application of synteny across Poaceae to determine the map location of a sugarcane rust resistance gene

Ruggine (*Puccinia melanocephela*) su canna da zucchero cv CP72-1210

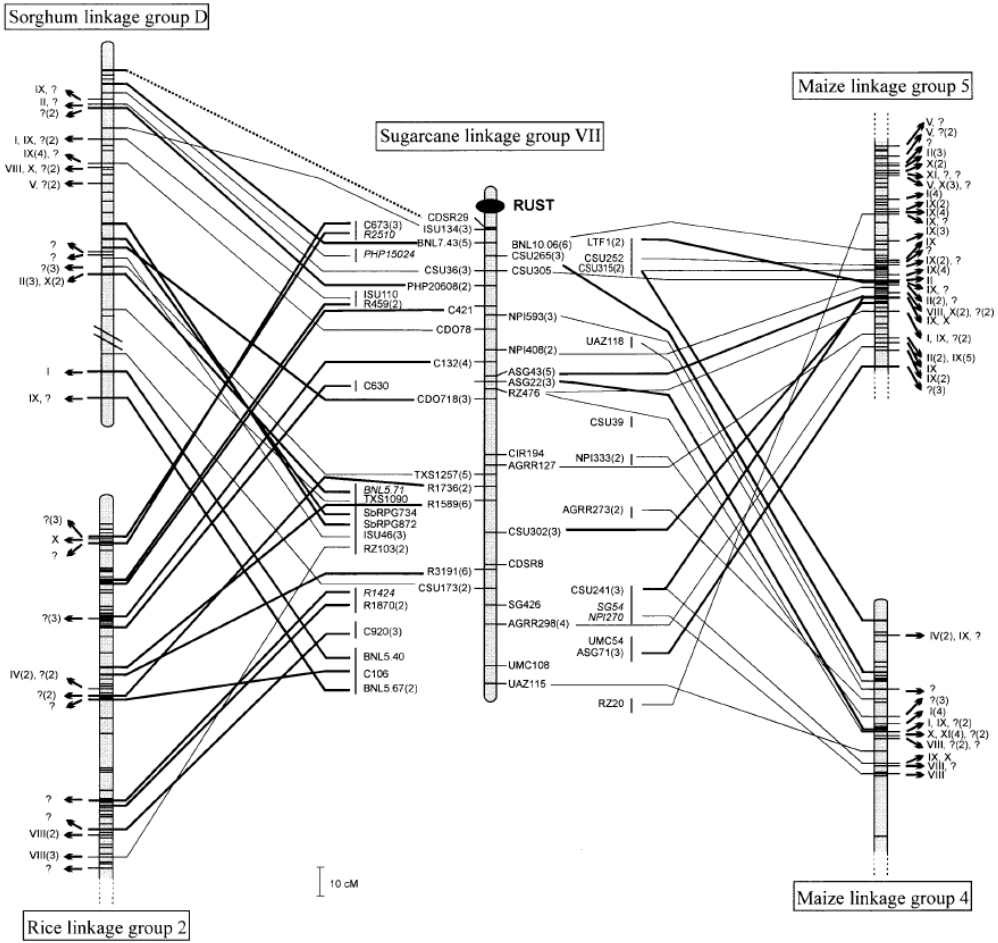
Può causare perdite fino al 40% del raccolto

La cultivar R570 possiede un gene di resistenza

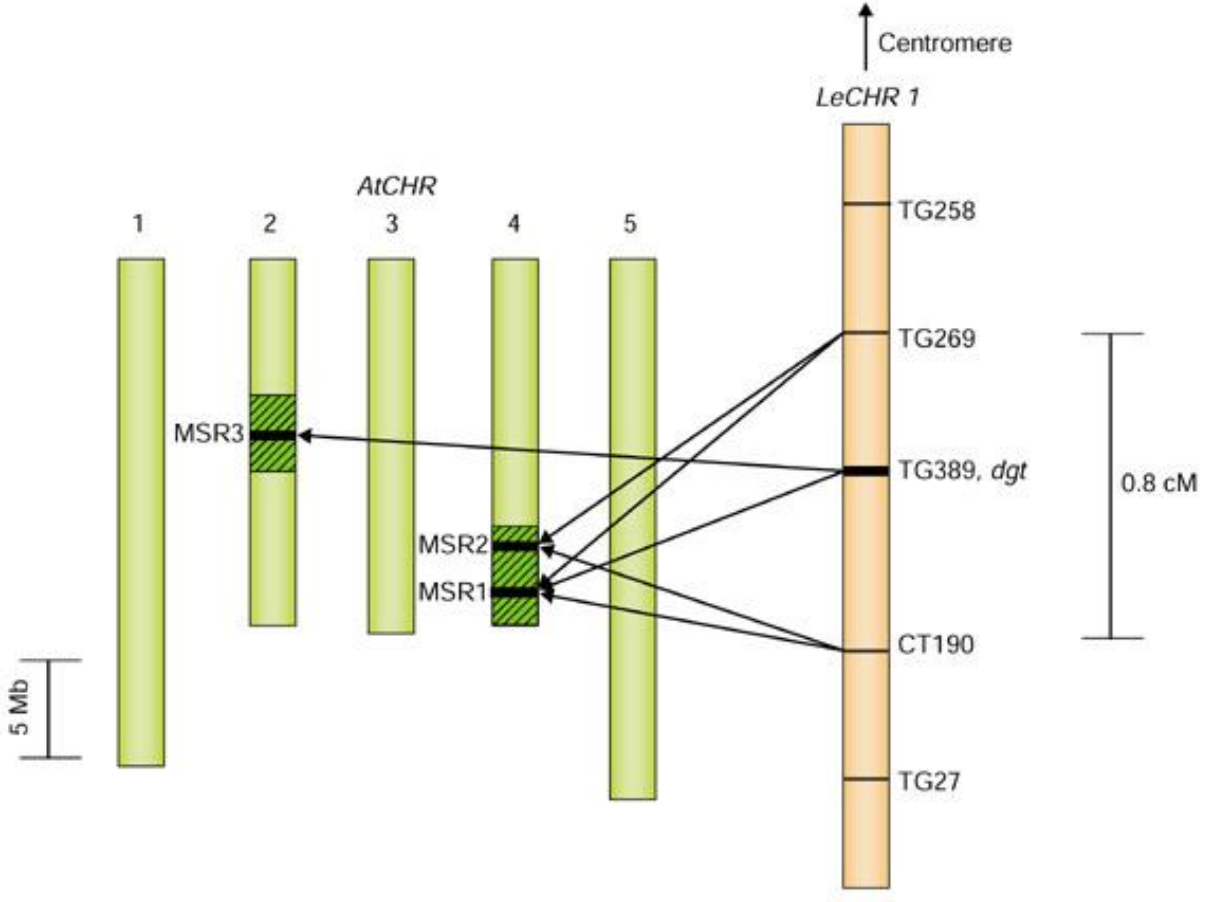
Table 1 Distribution of the 279 markers mapped on R570 linkage groups and locus coincidence with sorghum, maize and rice homoeologous segments

Linkage group[a]	Number of markers/linkage group	Number of probes involved	Locus coincidence with homoeologous regions			
			Sorghum D	Maize 4	Maize 5	Rice 2
I	11	5	2	2	2	–
II	12	6	2	–	4	–
IV	4	2	–	1	–	1
V	4	4	1	–	3	–
VII	122	53	17	11	14	14
VIII	10	7	1	3	1	2
IX	36	18	4	3	13	–
X	13	8	2	2	4	1
XI	5	2	–	1	1	–
Total	**217**		**29**	**23**	**42**	**18**
L	32	9				
U	30	34				
Total	**279**					

[a] Roman numbers indicate sugarcane linkage groups (in accordance with Grivet et al. 1996); L indicates co-segregation groups yet unassigned to any defined linkage group; U indicates markers yet unlinked. The nomenclature of sorghum linkage groups is that of Pereira et al. (1994)


Sorghum linkage group D
Sugarcane linkage group VII
Maize linkage group 5
Maize linkage group 4
Rice linkage group 2
RUST
IX, ?
II, ?
?(2)
I, IX, ?(2)
IX(4), ?
VIII, X, ?(2)
V, ?(2)
?
?
?(3)
II(3), X(2)
I
IX, ?
?(3)
X
?
?(3)
IV(2), ?(2)
?(2)
?
?
?
VIII(2)
VIII(3)
?
CDSR29
ISU134(3)
BNL7.43(5)
PHP15024
CSU36(3)
PHP20608(2)
ISU110
R459(2)
C421
CDO78
C132(4)
C630
CDO718(3)
TXS1257(5)
BNL5.71
TXS1090
R1736(2)
R1589(6)
SbRPG734
SbRPG872
ISU46(3)
RZ103(2)
R3191(6)
CSU173(2)
R1424
R1870(2)
C920(3)
BNL5.40
C106
BNL5.67(2)
C673(3)
R2510
BNL10.06(6)
CSU265(3)
CSU305
NPI593(3)
NPI408(2)
ASG43(5)
ASG22(3)
RZ476
CIR194
AGRR127
CSU302(3)
CDSR8
SG426
AGRR298(4)
UMC108
UAZ115
LTF1(2)
CSU252
CSU315(2)
UAZ118
CSU39
NPI333(2)
AGRR273(2)
CSU241(3)
SG54
NPI270
UMC54
ASG71(3)
RZ20
10 cM
V, ?
V, ?(2)
?
II(3)
X(2)
XI, ?, ?
V, X(3), ?
I(4)
IX(2)
IX(4)
IX, ?
IX(3)
IX
?
IX(2), ?
IX(4)
II
IX, ?
II(2), ?
VIII, X(2), ?(2)
IX, X
I, IX, ?(2)
II(2), IX(5)
IX
IX(2)
?(3)
IV(2), IX, ?
?
?(3)
I(4)
I, IX, ?(2)
X, XI(4), ?(2)
VIII, ?(2), ?
IX, X
VIII, ?
VIII

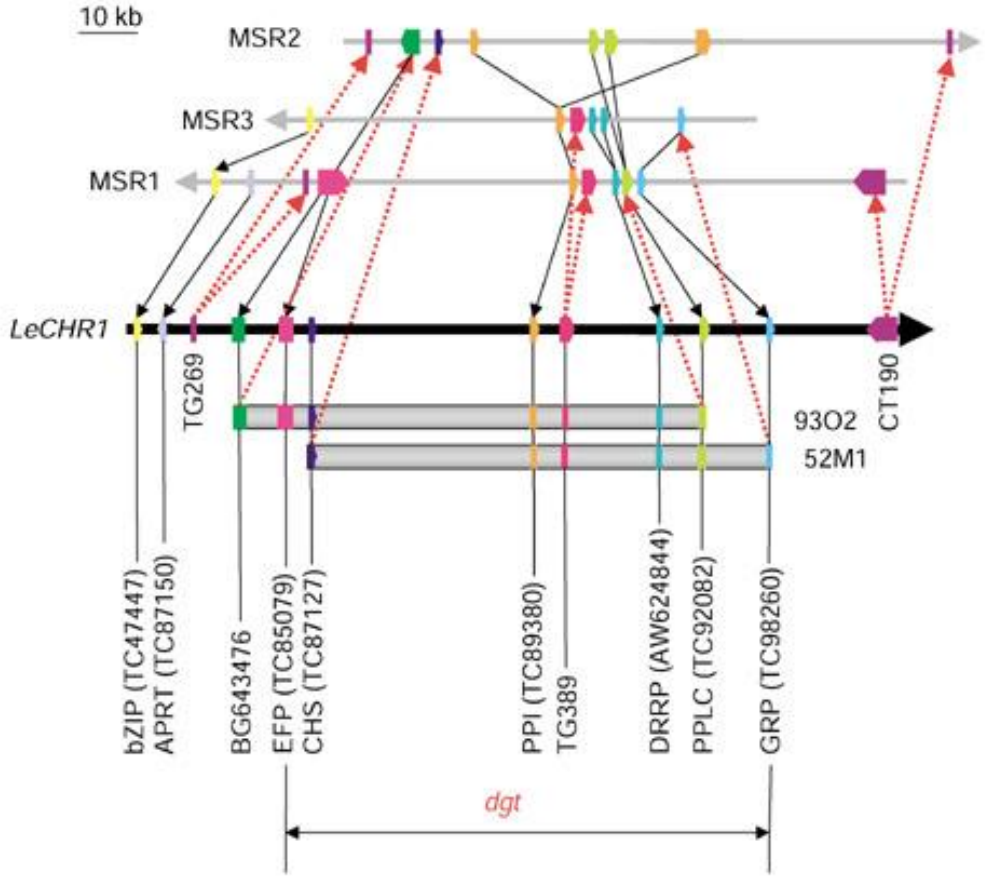
Regioni microsinteniche tra arabidopsis e pomodoro



Il mutante *diageotropica* (*dgt*) di pomodoro

- Ridotta sensibilità all'auxina

Mappatura del locus *dgt* di pomodoro sulla base della microsintenia con arabidopsis

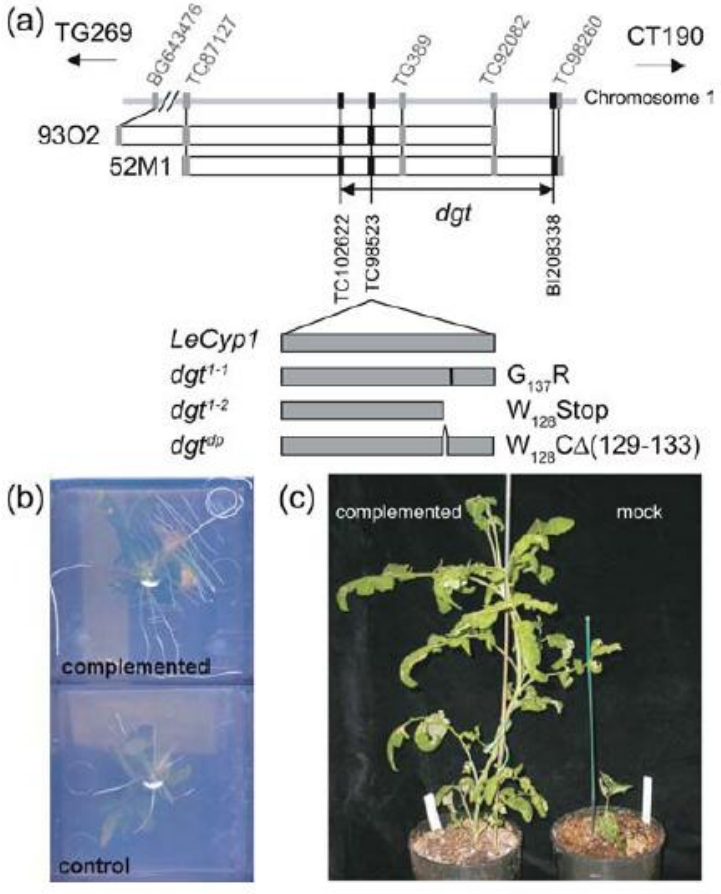


Planta (2006) 224: 133–144
DOI 10.1007/s00425-005-0202-z

ORIGINAL ARTICLE

KwangChul Oh · Maria G. Ivanchenko · T. J. White
Terri L. Lomax

The *diageotropica* gene of tomato encodes a cyclophilin: a novel player in auxin signaling


(a)
TG269
BG643476
TC87127
TG389
TC92082
TC98260
CT190
Chromosome 1
93O2
52M1
dgt
TC102622
TC98523
BI208338
LeCyp1
dgt1-1
G137R
dgt1-2
W123Stop
dgtdp
W128CΔ(129-133)
(b)
complemented
control
(c)
complemented
mock